

Einfluss von Desipramin auf die kardiale Substratoxidation bei Ischämie und Reperfusion

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades**

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-
Schiller-Universität Jena**

von Maximilian Magerl

geboren am 06.12.1993 in Nürnberg

Gutachter:

- 1. Univ.-Prof. Dr. med. Torsten Doenst (Jena)**
- 2. apl. Prof. Dr. med. habil. Marcus Franz (Jena)**
- 3. PD Dr. med. Karsten Lenk (Leipzig)**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 18.02.2020

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis.....	5
2	Zusammenfassung	6
3	Einleitung.....	8
3.1	Herzchirurgie und Kardioplegie	8
3.2	Grenzen der Kardioplegie.....	9
3.3	Pathophysiologie bei Ischämie	10
3.4	Pathophysiologie bei Reperfusion	12
3.5	Präkonditionierung.....	13
3.6	Desipramin	14
3.6.1	Pharmakologische Präkonditionierung.....	14
3.6.2	Strukturverwandschaft zu AAP10	15
3.6.3	Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer	15
4	Ziel der Arbeit	17
5	Methoden und Materialien	18
5.1	Chemikalien.....	18
5.2	Geräte	19
5.3	Perfusionsaufbau.....	19
5.4	Herstellung Perfusat	20
5.5	Versuchstiere.....	22
5.6	Studienaufbau	22
5.7	Präparation und Versuchsablauf	24
5.8	Auswertung Herzleistung.....	25
5.9	Auswertung Glukoseoxidation	25
5.10	Auswertung Oleatoxidation	25
5.11	Statistische Auswertung	26
6	Ergebnisteil.....	27

6.1	Einfluss von Desipramin auf Herzleistung und Substratoxidation.....	27
6.2	Einfluss von Desipramin auf Herzleistung und Substratoxidation bei Ischämie- und Reperfusion.....	31
7	Diskussion	39
8	Schlussfolgerung	47
9	Literaturverzeichnis	48
10	Anhang	56
10.1	Abbildungsverzeichnis.....	56
10.2	Tabellenverzeichnis.....	57
10.3	Lebenslauf..... Fehler! Textmarke nicht definiert.	
10.4	Danksagung	58
10.5	Ehrenwörtliche Erklärung	59

1 Abkürzungsverzeichnis

^{14}C	Radioaktives Kohlenstoffisotop
^3H	Radioaktives Wasserstoffisotop
AAP10	Antiarhythmisches Peptid 10
ADP	Adenindiphosphat
ATP	Adenintriphosphat
BSA	Bovines Serumalbumin
DGTHG	Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
I	Interaktion
L	Ischämie
min	Minuten
MPTP	Mitochondrialen Permeabilitäts-Transition-Pore
N	Endgröße
n.s.	Nicht signifikant
NADH	Nikotinamidadenindinukleotid
NADH/H^+	Nikotinamidadenindinukleotid
p	Signifikanzniveau

2 Zusammenfassung

Mit Einführung der Kardioplegie wurden in der Herzchirurgie zahlreiche Eingriffe ermöglicht, z.B. Bypass- oder Klappenoperationen am nichtschlagenden Herzen. Die Kardioplegie erlaubt es, die physiologische Ischämietoleranz des Herzmuskels von 15 bis 20 Minuten auf mehr als zwei Stunden zu erhöhen.

Allerdings bleibt diese Methode für das Myokard nicht folgenlos. Zum einen kommt es durch die vorliegende Ischämie, zum anderen durch die sich anschließende Reperfusion zu Schäden an den Herzmuskelzellen. Eine mögliche Strategie diesen sogenannten Ischämie- und Reperfusionsschäden zu begegnen, könnte in einer pharmakologischen Protektion des Herzmuskels bestehen. Das trizyklische Antidepressivum Desipramin vereint verschiedene Mechanismen, die bei Ischämie und Reperfusion eine protektive Wirkung auf die Kardiomyozyten entfalten. In der Pathogenese der Ischämie und Reperfusionsschäden spielt der kardiale Substratstoffwechsel eine zentrale Rolle. Es ist bislang unklar, welchen Einfluss Desipramin auf die Substratoxidation besitzt und wie es auf die Substratoxidation bei Ischämie und Reperfusion wirkt. Neunzig Prozent des kardialen Energiebedarfes werden durch Substrate der Glukose- und Fettsäureoxidation gedeckt. Deswegen untersucht die vorliegende Arbeit potenzielle Effekte von Desipramin auf diese beiden Stoffwechselwege.

Es wurden zwei Versuchsreihen am isoliert arbeitenden Rattenherzen durchgeführt. Während der Versuche wurden alle fünf Minuten Koronarfluss und Aortenfluss gemessen und eine Probe des Perfusats entnommen. Mittels der Probe und der darin enthaltenen radioaktiven Tracer wurden die Glukose- und Oleatoxidation ermittelt. In der ersten Versuchsreihe wurden die Herzen für 80 Minuten perfundiert und in zwei Gruppen aufgeteilt: Eine Kontrollgruppe und eine Gruppe mit Desipramingabe nach 30 Minuten. In der zweiten Versuchsreihe wurden die Herzen zunächst 20 Minuten perfundiert, dann 15 Minuten einer globalen Ischämie ausgesetzt und anschließend 40 Minuten reperfundiert. In dieser Versuchsreihe wurden die Herzen in drei Gruppen aufgeteilt: Eine Kontrollgruppe, eine Gruppe mit Desipramingabe zu Beginn der Perfusion und eine Gruppe mit Desipramingabe nach Ischämie.

In beiden Versuchsreihen zeigte sich, dass die mit Desipramin behandelten Herzen eine geringere Herzleistung erbringen als unbehandelte. Desipramin führte zu einer Steigerung der Glukoseoxidation und ließ die Oleatoxidation unbeeinflusst.

In den Ischämie- und Reperfusionsversuchen führte die Ischämie zu einem Abfall der Herzleistung in allen drei Gruppen. Mit Desipramin vorbehandelte Herzen zeigten eine schnellere Wiederherstellung ihrer Herzleistung nach Ischämie als unbehandelte Herzen.

In der Kontrollgruppe zeigte sich bei Reperfusion ein höherer Substratverbrauch pro Leistung. Vorbehandelte Herzen zeigten hingegen vor und nach Ischämie denselben Substratverbrauch pro Leistung und verloren somit nicht an Effizienz.

Eine postischämische Gabe von Desipramin ging mit einer Steigerung des Substratverbrauches pro Leistung einher und führte darüber hinaus zu einer geringen Herzleistung im Vergleich zu unbehandelten Herzen.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Zeitpunkt der Desipramingabe für eine Kardioprotektion ausschlaggebend ist. Eine Gabe von Desipramin nach Ischämie schadete den Herzmuskel, was sich in einer herabgesetzten Herzleistung in der Reperfusion widerspiegelt. Mit einer präischämischen Gabe Desipramins wurde eine schnellere Wiederherstellung der Herzleistung nach einer Ischämie erzielt. Weiter zeigte sich, dass Desipramin die Glukoseoxidation steigert. Dieser Einfluss auf die Substratoxidation hat sich insbesondere bei Ischämie- und Reperfusion als vorteilhaft erwiesen und verringert Ischämie- und Reperfusion assoziierte Schäden.

3 Einleitung

3.1 Herzchirurgie und Kardioplegie

Jährlich werden in Deutschland ca. 100.000 Operationen in der Herzchirurgie durchgeführt. Ungefähr 80 % dieser Eingriffe benötigen eine Herz-Lungen-Maschine. Die Herz-Lungen-Maschine wurde erstmals erfolgreich im Jahre 1953 für eine 45-minütige Operation eingesetzt. Seither hat sie sich zu einem essenziellen Bestandteil des Fachgebiets entwickelt (DGTHG 2018). Da das schlagende Herz ein schwieriges Operationsgebiet für filigrane und diffizile Eingriffe ist, entstand bereits früh die Idee, das Herz in einen temporären Arrest zu versetzen. Schnell stellte sich heraus, dass durch einen hypoxischen Arrest verursachte ischämische Schäden am Herzmuskel eine Wiederherstellung der Funktion des Herzmuskels unmöglich machen. In den 70er-Jahren wurde maßgeblich durch Bretschneider, Roe und Gay eine kaliumbasierte Kardioplegie etabliert (Bhakri et al. 2014, Bretschneider et al. 1975, Gay und Ebert 1973, Roe et al. 1977). Diese erreicht durch eine Manipulation des Membranpotenzials einen diastolischen Arrest und einen guten Schutz des Herzmuskels vor ischämischen Schäden (Larsen 2009). Bis heute ist diese Methode der Kardioplegie weltweiter Standard.

Heutzutage steht die moderne Kardiochirurgie vor Problemen des demographischen Wandels. Die Patienten werden immer älter und bringen immer mehr Begleiterkrankungen mit, die den klinischen Verlauf komplexer gestalten. Des Weiteren werden die Operationsverfahren komplizierter und zeitintensiver (Nicolini et al. 2014, Habertheuer et al. 2014).

Um den steigenden Ansprüchen während kardiochirurgischer Eingriffe gerecht zu werden, muss die Methode der Kardioplegie weiterentwickelt oder ergänzt werden (Bhakri et al. 2014).

3.2 Grenzen der Kardioplegie

Unter physiologischen Bedingungen beträgt die Ischämietoleranz des Herzmuskels ungefähr 20 Minuten. Im Laufe der Jahre haben sich, basierend auf der hyperkaliämischen Kardioplegie, eine Reihe von Verfahren entwickelt, die es ermöglichen den physiologischen Sauerstoffverbrauch des Myokards von 3 ml/min/100g auf 0,1-0,2 ml/min/100g zu senken. Mit diesem geringen Sauerstoffverbrauch können Ischämietoleranzen von bis zu drei Stunden erreicht werden (Ziemer und Haverich 2010).

Diese Zeitspanne gilt allerdings für einen gesunden Herzmuskel unter optimalen Bedingungen. Ein Problem entsteht bei der Verteilung der Kardioplegie. So kann der gesamte Herzmuskel nur adäquat geschützt werden, wenn sich die Kardioplegie homogen über die Koronarien und das Kapillarsystem verteilt. Bei inadäquaten Verteilungsmustern entstehen Bereiche, in denen die Kardioplegie ineffizient ist und somit die Ischämietoleranz des Gewebes stark sinkt. Dabei nimmt der Herzmuskel ischämische Schäden. Bedingt durch den beeinträchtigten Stoffwechsel kommt es zum nekrotischen und aber auch apoptotischen Untergang von Herzmuskelzellen. Paradoxerweise führt allerdings auch eine sich anschließende Reperfusion der ischämischen Areale zu weiteren Schäden am Myokard. Bezeichnet wird dies als Ischämie- und Reperfusionsschaden und ist mit einer erhöhten Morbidität sowie Mortalität assoziiert (Eltzschig und Eckle 2011). Erschwert werden Verteilungsstörungen durch strukturelle Veränderungen wie z.B. hypertrophe Ventrikel oder Koronarstenosen (Groesdonk und Larsen 2016, Gates et al. 1993, Vahasilta et al. 2005). Die Frage nach effektiven Kardioprotektion gewinnt somit mehr und mehr an Bedeutung. Da aber eine weitere Optimierung der hyperkaliämischen Kardioplegie unwahrscheinlich ist, muss nach weiteren Wegen für eine Kardioprotektion gefragt werden (Habertheuer et al. 2014).

3.3 Pathophysiologie bei Ischämie

Definiert wird eine Ischämie durch ein Missverhältnis zwischen Angebot und Bedarf an Blut. Durch dieses Missverhältnis fehlen dem Gewebe Sauerstoff und die Substrate für die Gewinnung von ATP (Roskamm 2013). Ursachen dafür können vielseitig sein: Herzinfarkte, Myokardhypertrophie und Anämien sind nur einige Beispiele (Vallbracht und Kaltenbach 2006). Allerdings kann es auch perioperativ trotz Einsatzes einer Kardioplegie zu einer Ischämie kommen, sei es durch Verteilungsstörungen oder eine Überschreitung der Ischämietoleranz.

Unter aeroben Bedingungen bedient sich der Herzmuskel einer Vielzahl von Substraten. Der Großteil des Energieäquivalent ATP wird aus der Oxidation von Fettsäuren, Glukose und Laktat gewonnen. Daneben werden allerdings auch Pyruvat, einige Ketonkörper und zum Teil auch Aminosäuren vom Herzen verstoffwechselt (Bing et al. 1954, Roskamm und Reindell 2013). Durch die Oxidation von Substraten wird an der inneren Mitochondrienmembran ein Protonengradient über die Atmungskette aufgebaut. Der Protonengradient wird unter Verbrauch von Sauerstoff in der oxidativen Phosphorylierung dazu verwendet, um ADP in ATP zu überführen (Heinrich et al. 2014). Das ATP wird von den Kardiomyozyten einerseits für die mechanische Arbeit des Herzmuskels, andererseits zur Aufrechterhaltung der Zellhomöostase der Kardiomyozyten benötigt (Roskamm und Reindell 2013).

In Abwesenheit von Sauerstoff kommt es zum Erliegen der oxidativen Phosphorylierung. Somit fehlt der wichtigste Schritt für die Regeneration des ATPs. Schnell führt das fehlende ATP zu einer Hemmung der mechanischen Arbeit des Herzmuskels (Hausenloy und Yellon 2013). Die Glykolyse übernimmt nun eine entscheidende Rolle bei der Bereitstellung von ATP. Die Glykolyse ist der erste Schritt in der Glukoseverwertung. Das Besondere an dieser Reaktion ist, dass dies - abgesehen von der oxidativen Phosphorylierung - der einzige Ort ist an dem ATP generiert werden kann. Beim aeroben Glukosestoffwechsel, also bei vollständig durchlaufener Glykolyse und oxidativer Phosphorylierung, werden 36 Mol ATP pro Mol Glukose generiert. Beim anaeroben Glukosestoffwechsel, lediglich Glykolyse, beträgt die Nettobilanz zwei Mol ATP pro Mol Glukose. Somit ist die Effizienz des Glukosestoffwechsels in Abwesenheit von Sauerstoff um ein Vielfaches geringer (Güter et al. 2013). Weiter wird für die Glykolyse das Reduktionsäquivalent NAD^+

benötigt. Auch NAD^+ muss regeneriert werden. Unter aeroben Bedingungen findet dieser Prozess in den Mitochondrien im Rahmen der Atmungskette statt. Bei anaeroben Bedingungen ist dieser Weg nicht möglich. Als Alternative kann Pyruvat, das Produkt der Glykolyse, durch die Laktatdehydrogenase in Laktat überführt werden (Horn 2009). In der Zelle reichert sich das Laktat an und führt folglich zu einer intrazellulären Azidose. Durch den Protonenüberschuss wird ein Na^+/H^+ -Austauscher aktiviert. Bedingt durch das einströmende Natrium sowie eine gehemmte $3\text{Na}^+/\text{2K}^+$ -ATPase (durch den ATP-Mangel) kommt es zu einer intrazellulären Akkumulation von Natrium. Bei einem Kompensationsversuch der Zelle über den $2\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher kommt es zu einem Calciumeinstrom in die Zelle (Hausenloy und Yellon 2013). Der Calciumeinstrom wird in der Literatur als eine der Ursachen für einen irreversiblen Schaden an Mitochondrien gesehen. Die sogenannten MPTP-Kanäle öffnen sich und es geht die Integrität der inneren Mitochondrienmembran verloren. Es folgt ein massives Anschwellen der Mitochondrien, eine Ruptur der äußeren Mitochondrienmembran und die Freisetzung von mitochondrialen Enzymen. Letzteres stellt ein proapoptotisches Signal dar. Gleichzeitig wird durch den Komplex V der Atmungskette aktiv ATP hydrolysiert, was die Energiesituation der Zelle weiter verschlechtert und zur Nekrose der Zelle führt (Halestrap 2006, Halestrap et al. 2002).

Insbesondere bei Ischämie und Reperfusion ist die Stoffwechsellage von Bedeutung. Aus einer mittelkettigen Fettsäure können zwar mehr ATP-Moleküle als aus einem Molekül Glukose generiert werden, aber dafür wird bei der Oxidation von Fettsäuren wesentlich mehr Sauerstoff pro erzeugten ATP-Molekül benötigt als bei der Oxidation von Glukose. Glukose besitzt rein rechnerisch einen Vorteil von ungefähr 12 % bei der Ausbeutung von ATP pro Sauerstoffmolekül. In vivo ermittelte Ergebnisse zeigen allerdings eine weitaus größere Differenz zwischen Glukoseoxidation und Fettsäureoxidation (Myrmel et al. 1992, Fukushima et al. 2015, Jaswal et al. 2011, Abozguia et al. 2009). Diese Diskrepanz wurde mit Werten bis zu 40 % beschrieben (Myrmel et al. 1992, How et al. 2005, Jaswal et al. 2011, Abozguia et al. 2009). Verantwortlich für diese Diskrepanz wird eine Gruppe von Proteinen, sogenannte Entkopplungsproteine, gemacht, die einen alternativen Weg zum Abbau des Protonengradienten der inneren Mitochondrienmembran zum Komplex V darstellen. Dabei wird die Energie nicht in ATP konvertiert, sondern als Wärme frei gegeben (Fukushima et al. 2015, Jaswal et al. 2011, Abozguia et al. 2009).

Dadurch ist es möglich, mit einer Verschiebung des Metabolismus hin zur Oxidation von Glukose eine Reduzierung des Sauerstoffverbrauches um bis zu 40 % zu erreichen (Abozguia et al. 2009).

Glukoseoxidation und Fettsäureoxidation sind eng miteinander verknüpft. Dieser Zusammenhang ist nach seinem Erstbeschreiber als Randle-Zyklus benannt (Randle et al. 1963). Er beschreibt eine nicht hormonelle Interaktion zwischen Fettsäurestoffwechsel und Glukosestoffwechsel. Es besteht ein hemmender wechselseitiger Einfluss der Produkte der jeweiligen Oxidationswege (Hue und Taegtmeyer 2009). Dabei inhibieren Produkte der Fettsäureoxidation den Glukosestoffwechsel insbesondere auf der Ebene der Pyruvatdehydrogenase. Bedingt durch diese Tatsache kann es zu einer Dysregulation zwischen Glykolyse und Glukoseoxidation kommen (Randle 1998, Jaswal et al. 2011). Daraus ergibt sich wiederum eine Beeinträchtigung des intrazellulären pH-Wertes. Bei einer vollständigen Glykolyse entstehen Protonen. Unter physiologischen Bedingungen wird das Endprodukt der Glykolyse, das Pyruvat, mit diesen Protonen zusammen in die Mitochondrien aufgenommen. Somit ist ein gekoppelter Glukosestoffwechsel pH-Wert neutral (Lopaschuk et al. 1993). Bei einer oben beschriebenen Dysregulation zwischen Glykolyse und Glukoseoxidation ist dieser intrazelluläre Protonenfluss beeinträchtigt. Dies trägt wiederum zu einer intrazellulären Azidose (Jaswal et al. 2011, Robergs et al. 2004) und damit zum Calciumeinstrom bei.

3.4 Pathophysiologie bei Reperfusion

Es scheint paradox, aber nicht nur die Ischämie selbst induziert Schäden am Myokard, auch die Reperfusion des Gewebes schädigt die Zellen zusätzlich. Zwar ist eine Reperfusion nach einem Ereignis wie zum Beispiel einen Infarkt essentiell um die Mortalität zu senken (Wood et al. 2012). Auf der anderen Seite ist auch bekannt, dass die Reperfusion zur Infarktgröße beiträgt und diese wiederum mit der Prognose in Bezug auf Mortalität und Morbidität verknüpft ist (Rosenberg et al. 2018). Dieses Phänomen wird als Reperfusionsschaden bezeichnet (Hausenloy und Yellon 2013, Braunwald und Kloner 1985). Als einen Teil des Pathomechanismus, der den Reperfusionsschaden induziert, wird oxidativer Stress gesehen. Die entstehenden

freien Radikale induzieren Zellschäden und die letztendlich zu einem Zelluntergang führen können (Zweier et al. 1987, Hausenloy und Yellon 2013). Als weiterer Mechanismus wird der die während der Ischämie stattfindende Überladung der Zelle mit Calcium gesehen. Diese Überladung erschwert sich in der Reperfusion und geht mit den oben beschriebenen Folgen für die Zelle einher (Pittas et al. 2018, Hausenloy und Yellon 2013, Braunwald und Kloner 1985). Auch wird diskutiert, inwieweit neutrophile Granulozyten im Rahmen eines immunologischen Prozesses eine Rolle spielen (Vinten-Johansen 2004). In der Reperfusion erreichen sowohl die Glykolyse als auch der oxidative Metabolismus von Glukose und Fettsäuren schnell präischämische Level (Liu et al. 1996a, Liu et al. 1996b). Dennoch ist die Herzleistung in der Reperfusion eingeschränkt (Lopaschuk 1997).

3.5 Präkonditionierung

Es gilt die Kardiomyozyten gegenüber den Ischämie- und Reperfusionsschäden zu schützen. Bei Operationen mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine wird dies zum Teil durch die Kardioplegie gewährleistet. Eine zusätzliche Kardioprotektion könnte unter Verwendung einer Präkonditionierung erreicht werden (Habertheuer et al. 2014). Eine Präkonditionierung konnte erstmals 1986 bei einem Tierversuch nachgewiesen werden. Dabei konnte der Herzmuskel vor Ischämie- und Reperfusionsschäden durch vorgeschaltete kurze Episoden (4-5 Minuten) von Ischämie und Reperfusion geschützt werden (Murry et al. 1986). Heute ist dies als ischämische Präkonditionierung bekannt. Interessant ist, dass eine ischämische Präkonditionierung nicht zwangsläufig am Herzen stattfinden muss, sondern auch an anderer Stelle, z.B. dem Arm, mit Erfolg durchgeführt werden kann (Rosenberg et al. 2018). Auch ist es möglich durch eine Reihe von Pharmaka die Effekte der Präkonditionierung zu erreichen (Krenz et al. 2013). Bisher sind die zugrundeliegenden Pathomechanismen noch nicht vollständig geklärt. Die MPTP (Mitochondrialen Permeabilitäts-Transition-Pore) scheinen in der Signalkaskade allerdings eine zentrale Rolle zu spielen (Iliodromitis et al. 2015). Sei es durch eine ischämische oder durch eine pharmakologische Präkonditionierung, kann das Myokard vor Ischämie und Reperfusion induzierten Schäden geschützt werden und dadurch das Infarktareal verringert werden (Iliodromitis et al. 2015, Rosenberg et al. 2018, Murry et al. 1986).

3.6 Desipramin

Eines der Pharmaka, durch das eine Präkonditionierung erreicht wird ist Desipramin (Cui et al. 2004, Das et al. 2007, Novgorodov und Gudz 2009). Bei diesem Pharmakon handelt es sich um ein trizyklisches Antidepressivum. Ursprünglich wurde das Medikament bei Depressionen und einigen weiteren Erkrankungen aus dem psychiatrischen Formenkreis verwendet. Der Wirkmechanismus des Medikaments gleicht dem der anderen trizyklischen Antidepressiva, indem es einen Wiederaufnahmehemmer für Noradrenalin und Serotonin darstellt. Weiterhin besitzt Desipramin anticholinerge sowie antihistaminische Eigenschaften und interagiert mit verschiedenen Ionenkanälen des kardialen Reizleitungssystems (Maan und Saadabadi 2018).

Desipramin scheint besonders geeignet zu sein, da es neben der Präkonditionierung über weitere kardioprotektive Mechanismen verfügt. Diese basieren auf seiner Strukturverwandtschaft zum AAP10 und der Interaktion mit den Noradrenalin-Wiederaufnahmekanälen (Du und Riemersma 1992, Eckhardt et al. 2003, Jozwiak et al. 2012, Kurz et al. 1995). Diese Mechanismen werden im Folgenden kurz beschrieben.

3.6.1 Pharmakologische Präkonditionierung

Desipramin bewirkt die Präkonditionierung durch Inhibition der sauren Sphingomyelinase (Cui et al. 2004). Die saure Sphingomyelinase ist ein Enzym, das die Reaktion von Sphingomyelin zu Ceramid katalysiert. Bei Ischämie und Reperfusion besitzen Ceramide eine entscheidende Signalfunktion für die Zelle. Im Vordergrund steht hier ein proapoptotisches Signal (Novgorodov und Gudz 2009). Es konnte nachgewiesen werden, dass, bedingt durch Ischämie, die Konzentration der Ceramide in den Kardiomyozyten steigt. Zu dieser Akkumulation von Ceramiden kommt es insbesondere in der Reperfusion (Argaud et al. 2004). Es konnte gezeigt werden, dass die Akkumulation von Ceramiden hauptsächlich auf eine erhöhte Aktivität der sauren Sphingomyelinase zurückzuführen ist. Als effektiver Inhibitor dieses Enzyms vermag

es Desipramin somit, die Ceramid-Konzentration in der Reperfusion zu senken. Auf diese Weise werden die Kardiomyozyten vor einer Apoptose geschützt (Novgorodov und Gudz 2009, Cui et al. 2004, Das et al. 2007).

3.6.2 Strukturverwandschaft zu AAP10

Außerdem besitzt Desipramin als AAP10 strukturverwandte Substanz antiarrhythmische Eigenschaften. AAP10 ist eine Leitsubstanz mehrerer Peptide, die in der Lage sind während einer Ischämie die Dissoziation von Zell-Zell-Kontakten zu verhindern. Bei diesen Zell-Zell-Kontakten handelt es sich um sogenannte Nexus (eng.: Gap-Junctions). Ein Nexus besteht aus jeweils zwei hexameren Kanälen (Connexine), deren Aufgabe es ist zwei Kardiomyozyten miteinander zu verbinden. Im gesunden Herz wird die elektromechanische Kopplung der Kardiomyozyten durch die Nexus gewährleistet. Diese Verbindungen sind hauptsächlich in den Glanzstreifen der Kardiomyozyten lokalisiert. Im ischämischen Herzmuskel geht die Ortsbezogenheit der Connexine verloren. Die Connexine sind nicht mehr vorwiegend an den Glanzstreifen zu finden, sondern verteilen sich über die gesamte Membran der Zelle. In Folge gehen die Nexus verloren und die elektromechanische Kopplung der Kardiomyozyten wird dadurch abgeschwächt. Dieser Mechanismus erhöht das Risiko für Reperfusionsarrhythmien (Dhein et al. 2010, Yu und Sheng 2011). Außerdem ist die Dissoziation von den Nexus mit einer herabgesetzten Herzleistung assoziiert (Gutstein et al. 2001).

3.6.3 Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer

Als dritter kardioprotektiver Effekt ist die Eigenschaft Desipramins als Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer zu nennen. Bei Ischämie und Reperfusion greift ein Mechanismus an den Kardiomyozyten, den man als Noradrenalin-Flut (eng.: Noradrenalin-Overflow) bezeichnet. Das bedeutet, dass endogenes Noradrenalin während einer prolongierten Ischämie aus den sympathischen Präsynapsen entweicht (Schomig et al. 1984, Kurz et al. 1995). Physiologisch wird Noradrenalin nach einer adäquaten Stimulation der Präsynapse über Exozytose in den synaptischen Spalt

freigesetzt. Anschließend bindet das Noradrenalin an seine entsprechenden Rezeptoren der Postsynapse. Die Wiederaufnahme des Noradrenalins aus dem synaptischen Spalt wird durch Noradrenalin-Wiederaufnahmekanäle vermittelt (Behrends 2010b, Behrends 2010a). Bei Ischämie und Reperfusion unterscheidet sich der Mechanismus, über den Noradrenalin in den synaptischen Spalt gelangt, deutlich von den physiologischen Gegebenheiten. Bei Ischämie verlieren die Noradrenalin-Wiederaufnahmekanäle ihre ursprüngliche Funktion. Noradrenalin entweicht über diese Wiederaufnahmekanäle aus der Präsynapse in den synaptischen Spalt (Kurz et al. 1995, Schomig et al. 1984). Die Wiederaufnahmekanäle sind während einer Ischämie also ein Leck für Noradrenalin. Zu diesem Leck kommt es erst bei Ischämien von über zehn Minuten. Bei prolongierten Ischämien nimmt das Ausmaß des entweichenden Noradrenalins mit der Zeit weiter zu (Schomig et al. 1984). Das akkumulierende Noradrenalin verursacht auf der einen Seite direkt Schäden an den Kardiomyozyten. Als Mechanismen werden unter anderem eine Calciumüberladung der Kardiomyozyten, ein relativer Sauerstoffmangel oder Katecholamin-Oxidationsprodukte, die als Radikale Kardiomyozyten schädigen, diskutiert (Rona 1985). Auf der anderen Seite besitzt Noradrenalin wiederum proarrhythmische Eigenschaften (Penny 1984). Es konnte gezeigt werden, dass Desipramin effektiv erhöhte Noradrenalinspiegel in der Reperfusion verhindern kann (Du und Riemersma 1992, Kurz et al. 1995, Eckhardt et al. 2003).

4 Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit ist es herauszufinden, ob mit Desipramin Ischämie- und Reperfusionsschäden verringert oder sogar verhindert werden können. Dabei sollen die Herzleistung und die wesentlichen Oxidationswege (Glukoseoxidation und Oleatoxidation) bei isolierter antegrader Herzperfusion und einem globalen Ischämiemodell beobachtet werden.

Desipramin vermittelt die Präkonditionierung durch eine Hemmung der Ceramidakkumulation. Zur einer wesentlichen Ceramidakkumulation kommt es erst im Rahmen der Reperfusion. Somit ist es denkbar, dass auch eine postischämische Gabe von Desipramin Ischämie- und Reperfusionsschäden am Herzmuskel zu verhindern vermag. Es soll ein Vergleich zwischen einer präischämischen Intervention und einer postischämischen Intervention (zu Beginn der Reperfusion) aufgestellt werden, um diese Hypothese zu untersuchen.

5 Methoden und Materialien

5.1 Chemikalien

Tabelle 1: Chemikalien

Chemikalien	Firma	Bestellnummer
14C-Glukose	PerkinElmer	NEC042x001MC
3H-Oleat	PerkinElmer	NET289001MC
Alcanox detergent	Sigma-Aldrich	242985-1.8KG
Benzethoniumhydroxid	Sigma-Aldrich	B2156-1L
BSA	Fisher Scientific	BP9704100
CaCl ₂	Merck	1.028.201.000
Carbogen-Flasche (95% O ₂ , 5% CO ₂)	the Linde Group	-
Desipramin	Sigma-Aldrich	D3900-1G
Filterharz	Bio-Rad Laboratories	1401441
Glukose	Sigma Aldrich	D3900-1G
Heparin	Ratiopharm	PZN-3029843
KCl	AppliChem GmbH	A1039
KH ₂ PO ₄	Riedel de Haen	30407
Methanol	Roth	4627.2
MgSO ₄ (H ₂ O) ₇	Merck	1058331000
NaCl	Roth	9265.1
NaHCO ₃	Roth	T876.1
Oleat	Sigma-Aldrich	O7501-5G
Perchlorsäure	Merck	1.005.181.000
Szintillations-Cocktail	PerkinElmer	6013329
Thiopental	Inresa Arzneimittel GmbH	PZN-4541589

5.2 Geräte

Tabelle 2: Geräte

Geräte	Firma
Scintillation Counter	Beckmann Coulter
Feinwaage	Sartorius AG
Schüttler	IKA®-Werke GmbH & CO. KG
Vortexer	Sartorius AG

5.3 Perfusionsaufbau

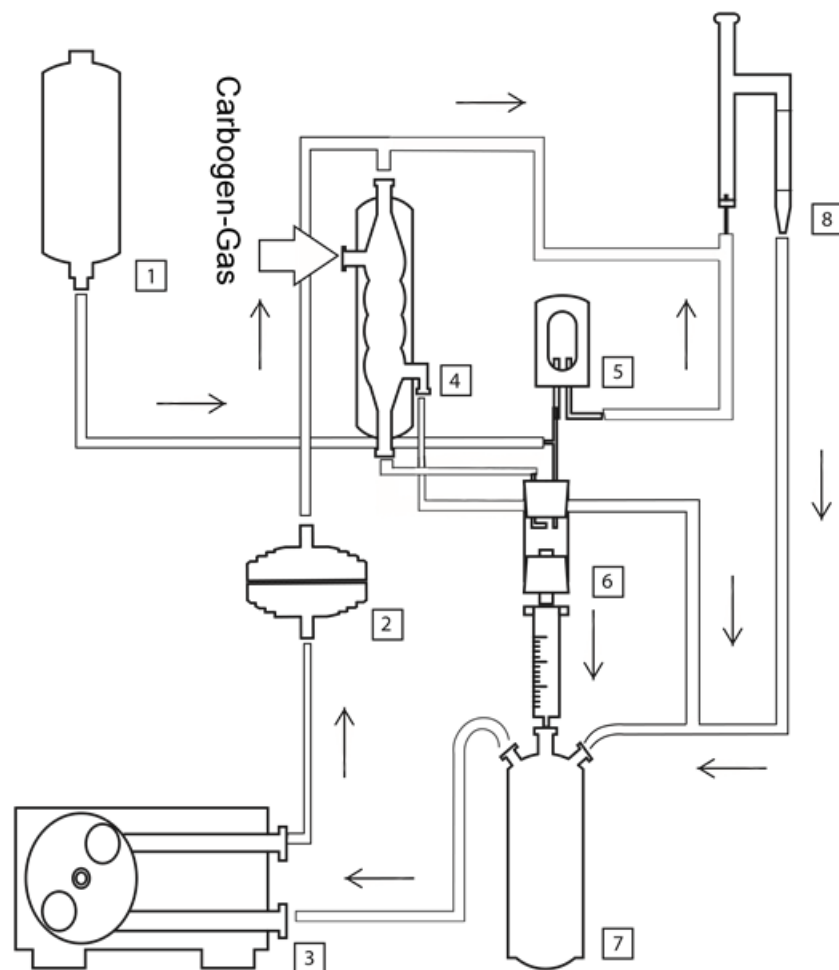


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus:

1=Langendorfgemäß, 2=Filter, 3=Pumpe, 4=Oxygenator, 5=Compliance-Kammer,
6=Herzkammer, 7=Sammelgefäß, 8=Steigrohr

Der in der Abbildung gezeigte Versuchsaufbau entspricht weitgehend der isolierten Herzperfusion von Taegtmeyer et al. (Taegtmeyer et al. 1980). Zusätzlich zu den oben dargestellten Verbindungen und Gefäßen wurde im Versuch ein System mit 37 °C warmen Wasser angebracht. Dieses umströmte alle Gefäße zur Aufrechterhaltung der Temperatur. Zusätzlich wurde der Versuchsaufbau luftdicht verschlossen und eine Ableitung für das abströmende Gas geschaffen.

Mit dem Langendorf-Gefäß konnte während der Präparation der Herzen eine retrograde Perfusion und somit die Oxygenierung gewährleistet werden. Mit Abschluss der Präparation wurde das Langendorf-Gefäß vom restlichen Kreislauf abgeklemmt. Vom Sammelgefäß aus wurde das Perfusat über einen Filter zum Oxygenator gepumpt. Vom Oxygenator aus gelangte das Perfusat zur Vorhofkanüle, die im linken Vorhof lag. Ein im Oxygenator vorhandener Überlauf sorgte für eine konstante Vorlast von 15 cm Wassersäule. Das arbeitende Herz pumpte das Perfusat über den linken Ventrikel weiter in die Aorta. Hier gelangte das Perfusat zum einen über die Koronarien und dem Sinus Coronarius in das rechte Herz, zum anderen über die Aortenkanüle zum Steigrohr. Das Steigrohr gewährleistete eine konstante Nachlast von 100 cm Wassersäule. Über beide Wege gelangte das Perfusat schließlich wieder in das Sammelgefäß.

Für die Ischämie- und Reperfusionsversuche wurde zusätzlich eine Überleitung von der Pumpe zum Steigrohr geschaffen. Die Überleitung gewährleistete unmittelbar nach der Ischämie eine ausreichende Perfusion der Koronarien, beziehungsweise Nachlast der Herzen. Nachdem die Herzen mit ihrer Pumpfunktion eine Nachlast von mindestens 70 cm Wassersäule erreichten, wurde die Überleitung aber wieder ausgeschaltet.

5.4 Herstellung Perfusat

Die Tabellen 3, 4 und 5 zeigen die Zusammensetzung aller Stammlösungen. Das Perfusat wurde für den jeweiligen Versuchstag neu angesetzt. Bevor Glukose und CaCl_2 dazugegeben wurden, wurde die Lösung für zehn Minuten mit Carbogen-Gas (95 % O_2 , 5 % CO_2) begast.

Das in der Perfusion verwendete Perfusat setzte sich aus 190 ml Krebs-Henseleit-Medium und 10 ml Krebs-Henseleit-Medium mit Oleat zusammen. Für die Präparation und die retrograde Perfusion wurde lediglich ein einfaches Krebs-Henseleit-Medium ohne Oleat verwendet.

Tabelle 3: Stammlösung: Krebs-Henseleit-Medium (20-fach)

Verbindung	Konzentration (mmol/l)
NaCl	128
KCl	5
KH ₂ PO ₄	1
MgSO ₄ (H ₂ O) ₇	1,3

Tabelle 4: Stammlösung: NaHCO₃

Verbindung	Konzentration (mmol/l)
NaHCO ₃	15

Tabelle 5: Stammlösung: CaCl₂

Verbindung	Konzentration (mmol/l)
CaCl ₂	2,5

Tabelle 6: Krebs-Henseleit-Medium

Komponente	für 1l Lösung
Destilliertes Wasser	917,5ml
Krebs-Henseleit-Medium (20-fach)	50ml
Stammlösung: NaHCO ₃	30ml
Stammlösung: CaCl ₂	2,5ml
Glukose	0,9g

Tabelle 7: Krebs-Henseleit-Medium mit Oleat

Komponente	für 200ml Lösung
BSA	40g
Oleat	487,5mg
Krebs-Henseleit-Medium	auf 200ml ergänzen

5.5 Versuchstiere

Alle in den Versuchen Versuchstiere gehörten dem Stamm Sprague-Dawley an. Die Versuchstiere waren zum Zeitpunkt des Versuchs zwischen 8 und 17 Wochen alt. Alle Tiere waren männlich.

5.6 Studienaufbau

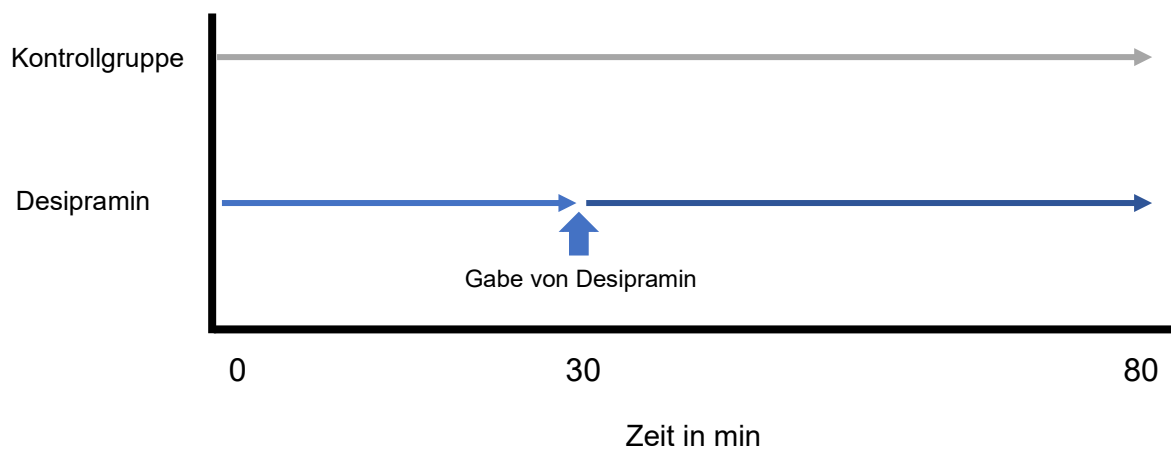


Abbildung 2: Schematische Übersicht der ersten Versuchsreihe

80 Minuten antegrade Perfusion; Kontrollgruppe ohne Behandlung gegen Desipramingruppe mit Gabe von Desipramin nach 30 Minuten.

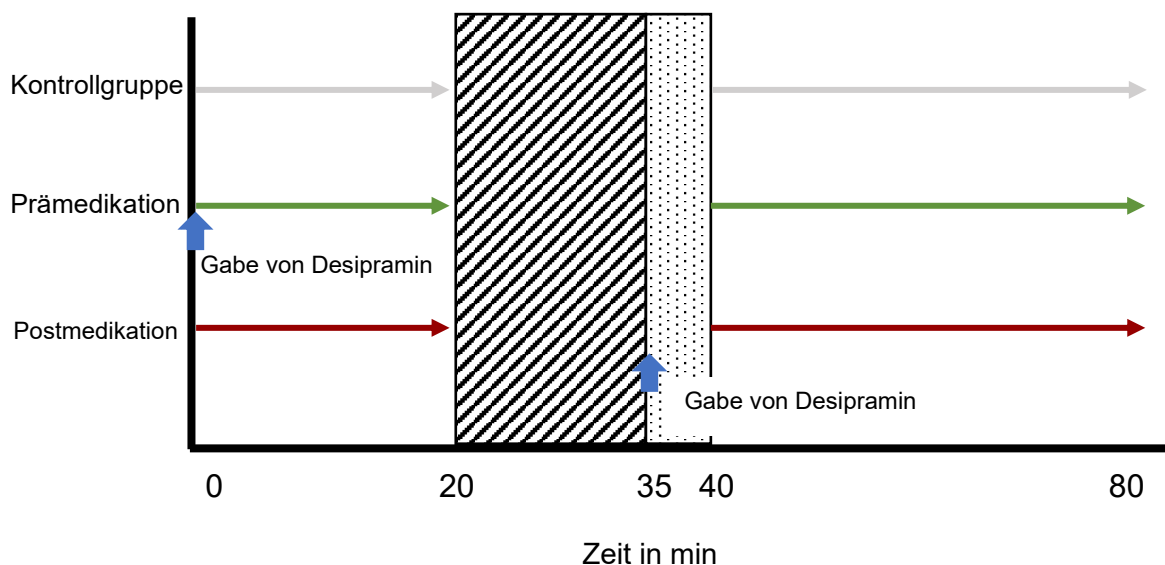


Abbildung 3: Schematische Übersicht der zweiten Versuchsreihe mit Ischämie und Reperfusion

20 Minuten Perfusion gefolgt von 15 Minuten globaler Ischämie (gestrichelt); anschließend 5 Minuten unter Zuhilfenahme der Überleitung (gepunktet) und 40 Minuten Reperfusion; Kontrollgruppe ohne Behandlung gegen Prämedikation mit Gabe von Desipramin zu Beginn des Versuches gegen Postmedikation mit Gabe von Desipramin zu Beginn der Überleitungszeit.

In dieser Arbeit wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt. In der ersten Versuchsreihe wurden die Wirkung von Desipramin auf die Herzleistung, auf die Glukoseoxidation und auf die Oleatoxidation untersucht. Dafür wurden die Herzen der Versuchstiere in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe unterlag keiner Behandlung und stellte die Kontrollgruppe dar. Den Herzen der anderen Gruppe wurde in der 30. Minute Desipramin in der Dosierung 1 $\mu\text{mol/l}$ zugegeben. In dieser Versuchsreihe wurden die ersten 30 Minuten der Perfusion mit dem Zeitraum der 30-80 Minuten beziehungsweise der 30-50 Minuten verglichen. Die Endgröße für die Kontrollgruppe betrug $N=4$ und für Gruppe mit Desipramingabe $N=10$.

In der zweiten Versuchsreihe wurden die potenziellen Auswirkungen von Desipramin und dem Zeitpunkt der Medikamentengabe auf die Herzleistung und auf die Substratoxidation bei Ischämie und Reperfusion untersucht. Dazu wurden die Herzen

der Versuchstiere zunächst für 20 Minuten perfundiert und anschließend für 15 Minuten einer globalen Ischämie ausgesetzt. Anschließend folgte eine Reperfusion für 40 Minuten. Die Herzen wurden in drei Gruppen aufgeteilt. Die Kontrollgruppe bekam kein Desipramin und wurde lediglich der Ischämie ausgesetzt. Die Herzen der Gruppe Prämedikation erhielten Desipramin ($1\mu\text{mol/l}$) zu Beginn des Experiments. Die Herzen der Gruppe Postmedikation erhielten Desipramin ($1\mu\text{mol/l}$) nach Beendigung der Ischämie. Die Endgröße für die Kontrollgruppe betrug $N=9$, für die Gruppe Prämedikation $N=8$ und für die Gruppe Postmedikation $N=7$.

In beiden Versuchsreihen wurden diejenigen Herzen, deren Nachlast weniger als 70 cm Wassersäule zu einem bestimmten Messzeitpunkt während des Versuchs betrug, in der Auswertung der Daten nicht berücksichtigt.

5.7 Präparation und Versuchsablauf

Nach erfolgter Entnahme der Herzen wurden diese in ein gekühltes Perfusat gegeben. Dort erfolgte die weitere Präparation. Lungenlappen, Thymus sowie Weichteilgewebe wurden entfernt. Die Aorta wurde dargestellt und nach circa 1 cm abgesetzt. Nach Anschluss an das Langendorfgesäß und somit einer retrograden Perfusion erfolgte die Kanülierung des linken Vorhofs durch den Truncus pulmonalis. Das Langendorfgesäß konnte abgeklemmt werden und die retrograde Perfusion somit auf eine antegrade Perfusion umgestellt werden.

Nach erfolgter Präparation und Stabilisierung der Herzleistung wurden das Krebs-Henseleit-Medium mit Oleat sowie die radioaktiven Tracer hinzugegeben und der Versuch gestartet. In Abständen von fünf Minuten wurden Aortenfluss und Koronarfluss gemessen. Außerdem wurden alle fünf Minuten jeweils zwei Milliliter Perfusat als Probe entnommen.

Nach Beendigung des Versuchs wurde der Herzmuskel umgehend in Stickstoff eingefroren und gewogen. Dadurch konnte später das Trockengewicht bestimmt werden.

5.8 Auswertung Herzleistung

Die Berechnung der Herzleistung erfolgte über zwei Werte. Zum einen über das Volumen, das durch die Herzen bewegt wurde. Das Volumen wurde aus der Bestimmung des Aorten- und Koronarflusses ermittelt. Zum anderen über den in allen Versuchen festgelegten Wert der Nachlast von 100 cm Wassersäule. Die Herzleistung wurde über die gesamte Versuchslaufzeit in Abständen von fünf Minuten gemessen und berechnet.

5.9 Auswertung Glukoseoxidation

Die Bestimmung der Glukoseoxidation erfolgte über die im Versuch entnommenen Perfusatproben. Zur Aufarbeitung der Proben wurden jeweils 500 µl entnommen und in ein kleines Reaktionsgefäß pipettiert. Dieses Gefäß wurde dann in ein größeres Reaktionsgefäß mit 1 ml Benzethoniumhydroxid gestellt und mit einem Gummistopfen luftdicht verschlossen. Mit einer Spritze wurden anschließend durch den Gummistopfen 1 ml Perchlorsäure in die kleinen Reaktionsgefäße mit der Perfusatsprobe appliziert. Alles zusammen wurde für 12 Stunden auf einem Schüttler platziert. Nach dieser Zeit wurden die kleinen Reaktionsgefäße entfernt und das Benzethoniumhydroxid mit dem Szintillations-Cocktail versetzt und die radioaktive Strahlung gemessen. Zusätzlich wurde die Strahlung des abströmenden Gases während des Versuchs in Benzethoniumhydroxid gefüllten Glasbehältern bestimmt. Aus dem Anstieg der Summe beider Ergebnisse ließ sich die Rate der Glukoseoxidation berechnen.

5.10 Auswertung Oleatoxidation

Die Bestimmung der Oleatoxidation erfolgte über die im Versuch entnommenen Perfusatproben. Es wurden jeweils 0,1 ml der Proben mittels Säulenchromatographie aufgearbeitet. Das in den Säulen verwendete Filterharz hielt sowohl Glukose als auch Oleat zurück. Radioaktives Wasser als Produkt der Oleatoxidation konnte den Filter

passieren. Anschließend wurde durch Zugabe des Szintillations-Cocktails die Radioaktivität bestimmt. Anhand des Anstiegs der Radioaktivität mit der Zeit konnte die Oleatoxidation bestimmt werden.

5.11 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde das Programm Sigma Plot Version 13.0 für Windows verwendet. Das Signifikanzniveau wurde gemäß allgemeinem Standard mit $p < 0,05$ beziehungsweise $p < 0,01$ und $p < 0,001$ festgelegt.

6 Ergebnisteil

6.1 Einfluss von Desipramin auf Herzleistung und Substratoxidation

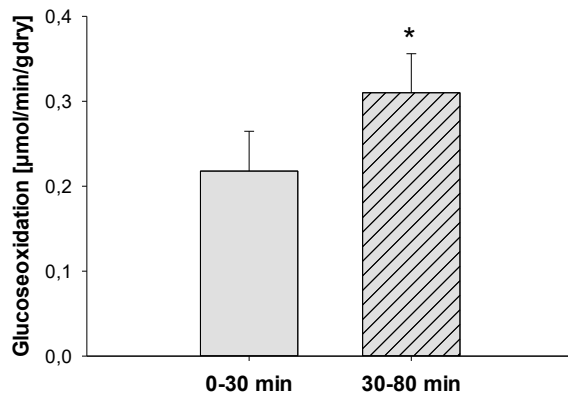
In Tabelle 8 sind Tierdaten aller Versuche ohne Ischämie und Reperfusion aufgeführt (1. Versuchsreihe). Bei allen Versuchstieren handelte es sich um erwachsene Ratten. Kontrolltiere waren im Durchschnitt älter als Desipramin behandelte Tiere und unterschieden sich somit in Körpergewicht, Tibiallänge, Lebergewicht und Herzgewicht.

Tabelle 8: Tierdaten der ersten Versuchsreihe

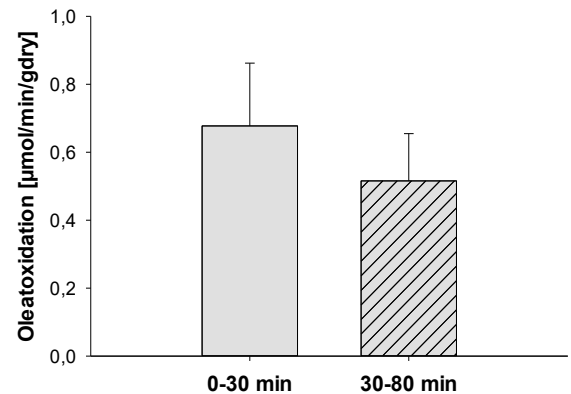
Parameter	Kontrolle	Desipramin
Alter [Wochen]	15,2±0,7	12,7±0,8*
Körpergewicht [g]	574±15	463±31
trocken Herzgewicht [mg]	335±13	282±17
Tibiallänge [mm]	43,0±0,4	39,4±1,0
Lebergewicht [g]	18,9±0,8	15,8±0,7*
Lungengewicht [g]	1,87±0,04	1,50±0,08*
trocken Herzgewicht/Körpergewicht [g/kg]	0,58±0,02	0,61±0,02
trocken Herzgewicht/Tibiallänge [g/m]	0,78±0,03	0,71±0,03
Lebergewicht/Körpergewicht [g/kg]	32,9±1,1	34,5±0,9
Lebergewicht/Tibiallänge [g/m]	43,9±1,9	39,9±1,00
Lungengewicht/Körpergewicht [g/kg]	3,26±0,08	3,26±0,08
Lungengewicht/Tibiallänge [g/m]	4,36±0,10	3,77±0,13*

*Mittelwert ± Standardfehler; Kontrolltiere vs. Desipramin; $p < 0,05 = *$*

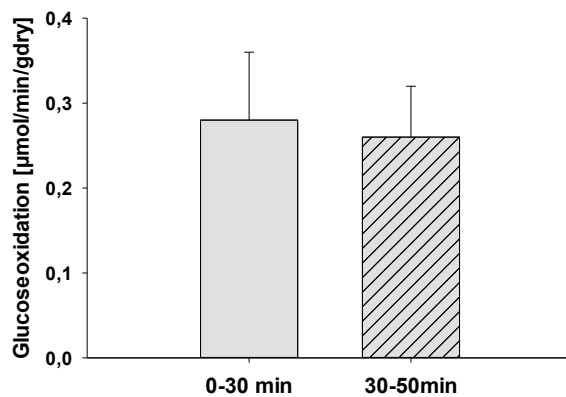
A



B



C



D

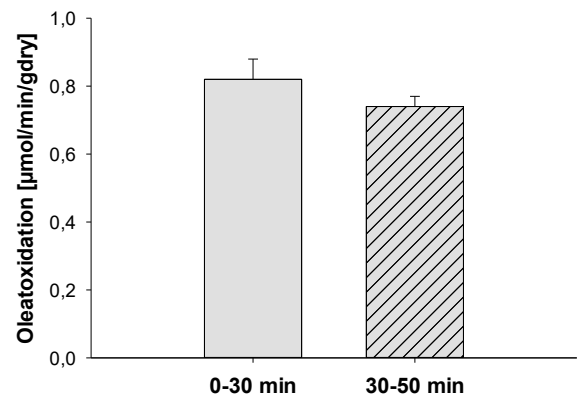


Abbildung 4: Entwicklung der kardialen Substratoxidation über die Versuchslaufzeit

Glukoseoxidation (A und C) und Oleatoxidation (B und D); A und B: Vergleich zwischen 0-30 min (leer) und 30-80 min (schraffiert); C und D: Vergleich zwischen 0-30 min (leer) und 30-50 min (schraffiert); Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$

Die Herzen der Kontrolltiere der ersten Versuchsreihe zeigten über die gesamte Versuchslaufzeit eine konstante Herzleistung (Abbildung 5). Die Kontrollherzen wiesen über die Versuchslaufzeit von 80 Minuten folgende Veränderungen auf: Die Glukoseoxidation stieg mit der Zeit signifikant an. Die Oleatoxidation unterlag keinen signifikanten Veränderungen. Nach Eingrenzung der Versuchslaufzeit auf 50 Minuten zeigten sich weder in der Glukoseoxidation noch in der Oleatoxidation eine signifikante Änderung (Abbildung 4).

Nach Gabe von Desipramin in der 30. Minuten zeigte sich ein Abfall der Herzleistung (Abbildung 6). Auch zeigten die Herzen eine tendenzielle Steigerung der

Glukoseoxidation. Die basale Oleatoxidation fiel ab. Bezogen auf die Herzleistung ließ sich allerdings kein signifikanter Unterschied in der Oleatoxidation erkennen. Aus gesteigertem Substratverbrauch und eingeschränkter Leistung war ein Effizienzverlust des Substratstoffwechsels der behandelten Herzen zu erkennen (Abbildung 7).

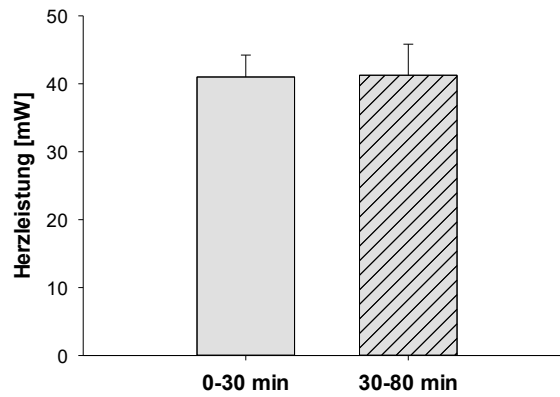


Abbildung 5: Entwicklung der Herzleistung der Kontrolltiere über die Versuchslaufzeit
Vergleich zwischen 0-30 min (leer) und 30-80 min (schraffiert); Mittelwert \pm Standardfehler;
 $p < 0,05 = *$

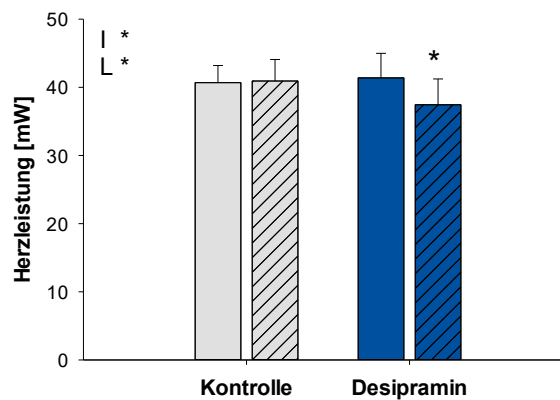
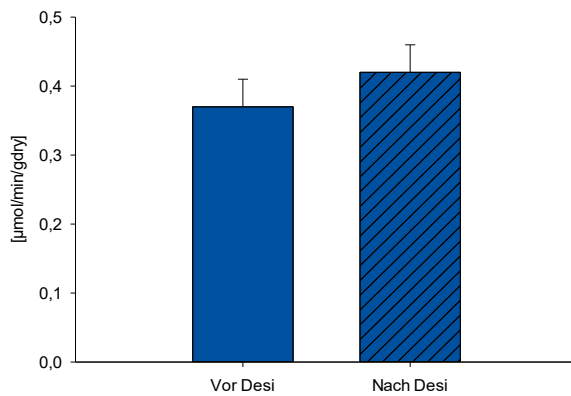
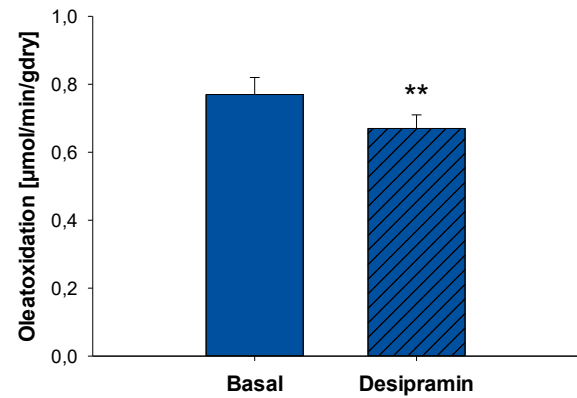


Abbildung 6: Einfluss von Desipramin auf die Herzleistung:
Kontrolle vs. Desipramin; Vergleich zwischen 0-30 min (leer) und 30-50 min (schraffiert);
Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$; I=Interaktion; L= Zeitpunkt

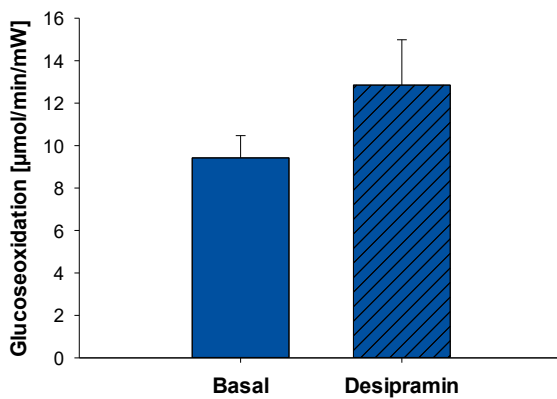
A



B



C



D

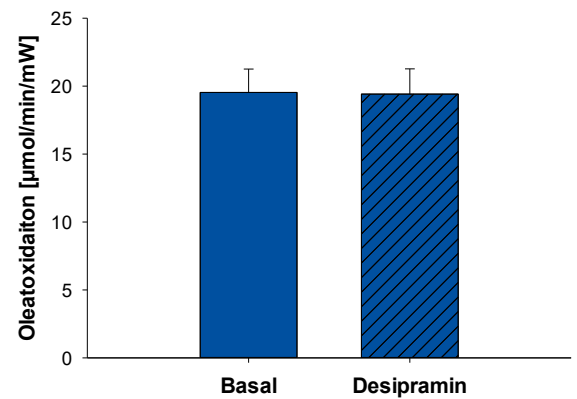


Abbildung 7: Einfluss von Desipramin auf die kardiale Substratoxidation

Glukoseoxidation (A) und Oleatoxidation (B); Glukoseoxidation (C) und Oleatoxidation (D) bezogen auf Herzleistung; Vergleich zwischen basalem Stoffwechsel 0-30 min (leer) und Stoffwechsel nach Desipramingabe 30-50 min (schraffiert); Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$

6.2 Einfluss von Desipramin auf Herzleistung und Substratoxidation bei Ischämie- und Reperfusion

In Tabelle 9 die Tierdaten aller Versuche mit Ischämie und Reperfusion aufgeführt (2. Versuchsreihe). Bei allen Versuchstieren handelte es sich um erwachsene Tiere. Die Gruppen zeigten keine relevanten Unterschiede in den unten aufgeführten Parametern.

Tabelle 9: Tierdaten der zweiten Versuchsreihe

Parameter	Kontrolle	Prämedikation	Postmedikation
Alter [Wochen]	12,0±0,5	12,0±0,2	10,6±0,6
Körpergewicht [g]	415±21	443±17	385±16
trocken Herzgewicht [mg]	276±9	269±10	273±11
Tibiallänge [mm]	37,4±0,9	38,6±0,4	36,3±0,5
Lebergewicht [g]	14,3±0,7	14,7±1,0	13,4±0,3
Lungengewicht [g]	1,40±0,09	1,49±0,06	1,30±0,05
trocken Herz- /Körpergewicht [g/kg]	0,67±0,02	0,61±0,00*	0,71±0,02
trocken Herzgewicht/Tibiallänge [g/m]	7,39±0,19	6,97±0,24	7,51±0,25
Lebergewicht/Körpergewicht [g/kg]	34,7±1,2	32,8±1,2	35,1±1,2
Lebergewicht/Tibiallänge [g/m]	382±16	379±25	370±6
Lungengewicht/Körpergewicht [g/kg]	3,33±0,09	3,36±0,08	3,37±0,04
Lungengewicht/Tibiallänge [g/m]	37,2±1,9	38,5±1,5	35,7±1,1

*Mittelwert ± Standardfehler; Kontrolltiere vs. Prämedikation vs. Postmedikation; p<0,05=**

Bei den Daten der zweiten Versuchsreihe erfolgte eine Auswertung in zwei Schritten.

Zum einen wurden für die ersten 20 Minuten der Perfusion alle unbehandelten Herzen, also Herzen der Kontrolltiere und Herzen der Gruppe Postmedikation, mit allen Behandelten verglichen. Zum anderen wurden die Veränderungen im Stoffwechsel

und der Herzleistung durch Ischämie und Reperfusion sowie der Einfluss von Desipramin bzw. der Zeitpunkt der Desipramingabe beobachtet.

Vor Ischämie zeigten die behandelten Herzen eine geringere Leistung als die unbehandelten Herzen (Abbildung 8). Die Glukoseoxidation der mit Desipramin behandelten Herzen stellte sich als signifikant höher im Vergleich zu den unbehandelten Herzen dar. Bei der Oleatoxidation zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Mit Desipramin behandelte Herzen wiesen einen höheren Substratverbrauch pro Leistung und damit eine geringere Effizienz auf (Abbildung 9 und 10).

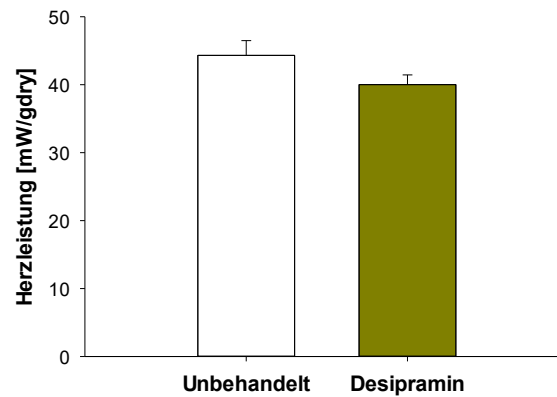
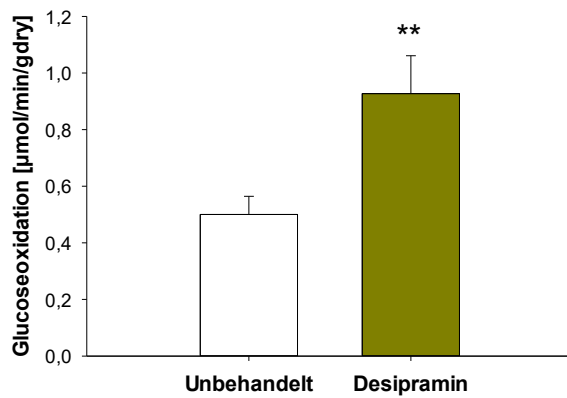


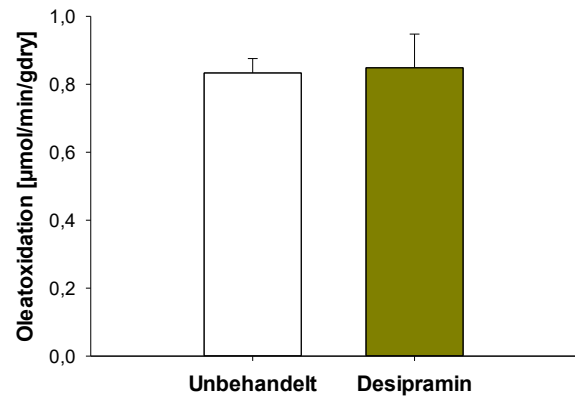
Abbildung 8: Einfluss von Desipramin auf die Herzleistung

*Vergleich zwischen unbehandelten Herzen (weiß) und Prämedikation (grün) in den ersten 20 min der Perfusion; Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$*

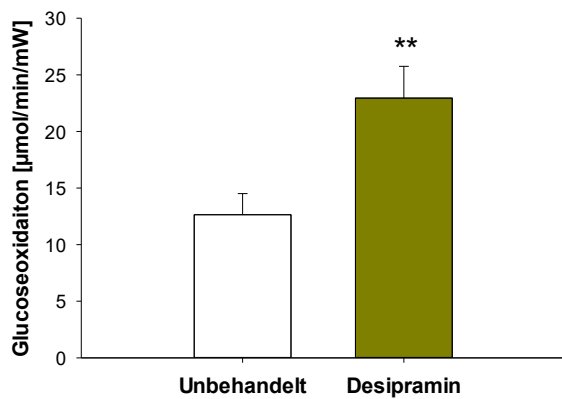
A



B



C



D

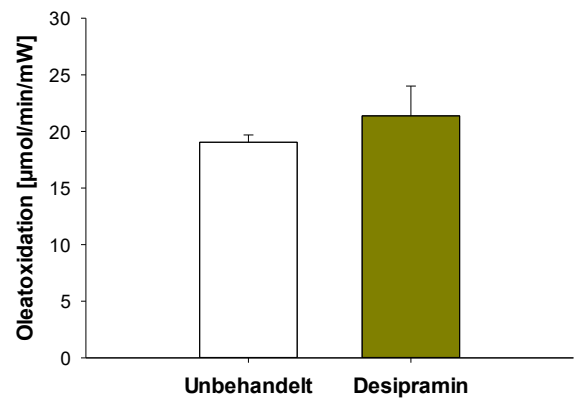


Abbildung 9: Einfluss von Desipramin auf die kardiale Substratoxidation

Glukoseoxidation (A) und Oleatoxidation (B); Glukoseoxidation (C) und Oleatoxidation (D) bezogen auf die Herzleistung; Vergleich zwischen unbehandelten Herzen (weiß) und Prämedikation (grün) in den ersten 20 min der Perfusion; Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$

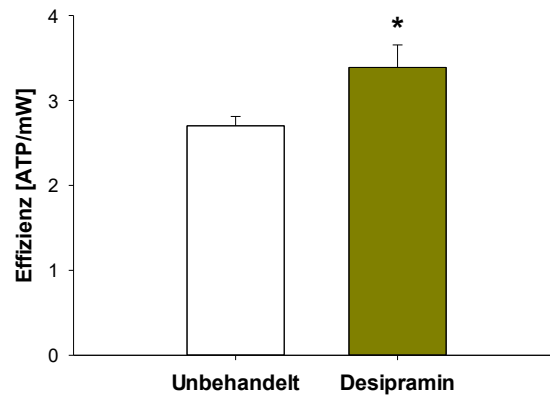


Abbildung 10: Einfluss Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)
Vergleich zwischen unbehandelte Herzen (weiß) und Prämedikation (grün) in den ersten 20 min der Perfusion; Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$

Die globale Ischämie führte zu einem Abfall der Herzleistung in allen drei Gruppen. Die geringste Herzleistung nach Ischämie fand sich in der Gruppe mit Desipramingabe nach Ischämie. Kontrollherzen und Herzen der Gruppe Prämedikation zeigten nach Ischämie eine vergleichbare Leistung (Abbildung 11). In den ersten 10 Minuten der Reperfusion war die Leistung der mit Desipramin vorbehandelten Herzen größer als die der Kontrollherzen. Danach glichen sich diese beiden Gruppen an (Abbildung 12).

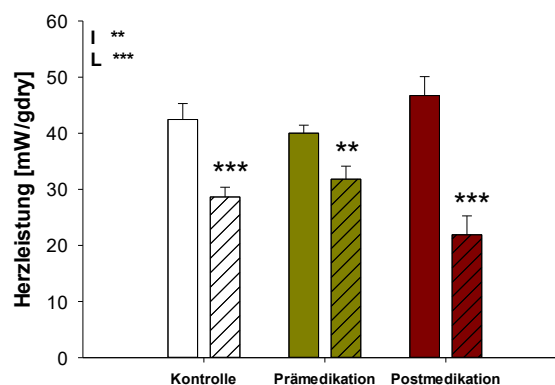


Abbildung 11: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Herzleistung
Vergleich zwischen Kontrollherzen (weiß), Prämedikation (grün) und Postmedikation (rot); Vor Ischämie (I), Nach Ischämie (L); Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$; Signifikanz innerhalb einer Gruppe = *; I = Interaktion; L = Ischämie

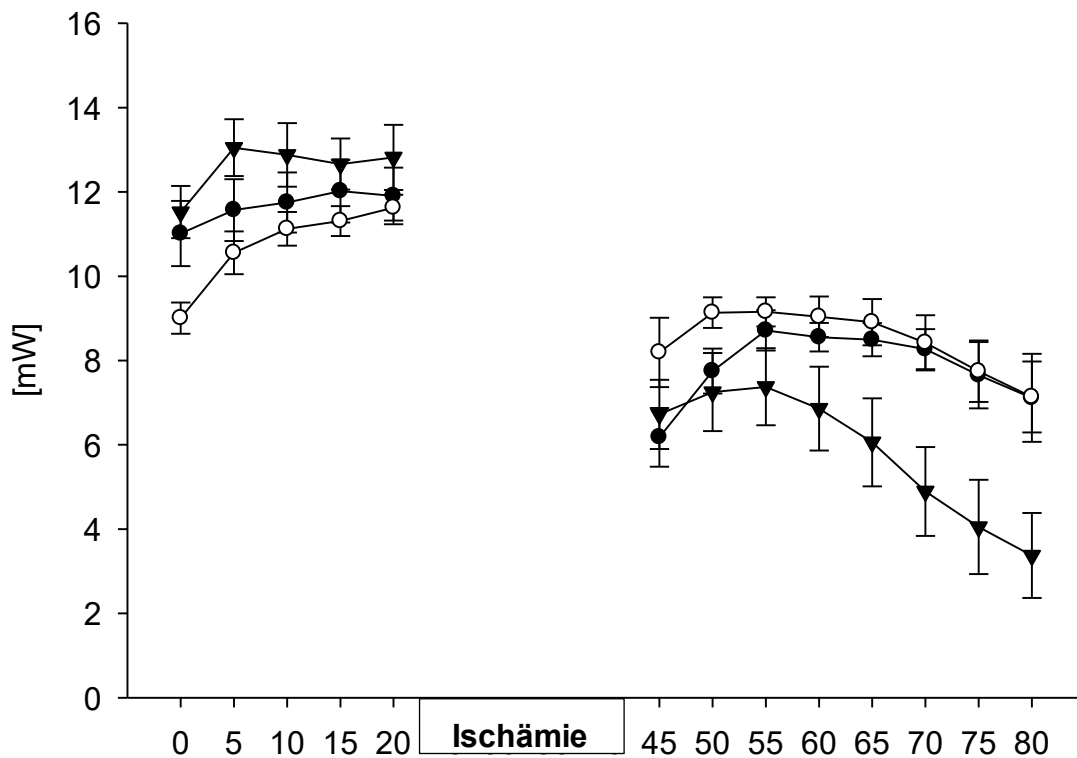


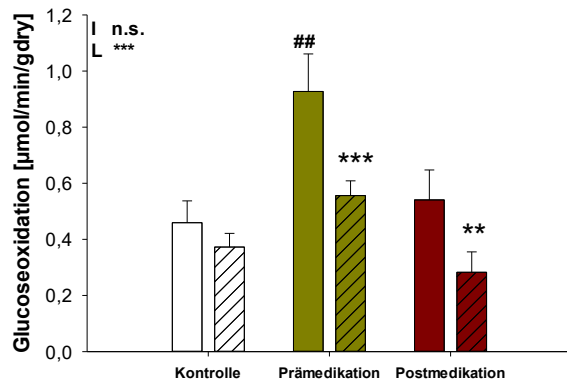
Abbildung 12: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Herzleistung
 Herzleistung in Abständen von 5 min über den gesamten Zeitraum des Versuchs; Mittelwert \pm Standardfehler; Kontrollherzen (●); Prämedikation (○); Postmedikation (▲)

Beim Herzstoffwechsel der Kontrollherzen war zu beobachten, dass sowohl die Glukoseoxidation als auch die Oleatoxidation nach Ischämie abfielen. Dieser Abfall stand allerdings nicht im Verhältnis zum Leistungsverlust. Die Herzen hatten somit einen höheren Substratverbrauch pro Leistung. Daraus ergab sich eine geringere Effizienz der Herzen.

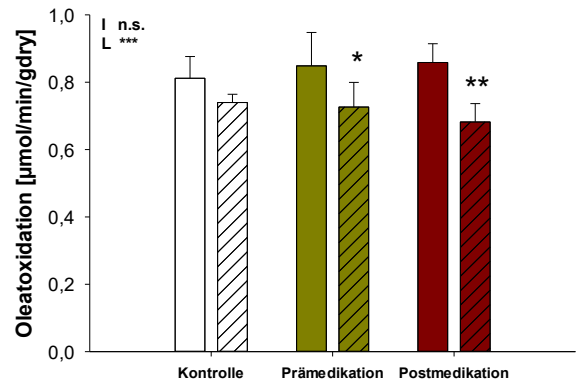
Auch bei der Gruppe mit Gabe von Desipramin vor Ischämie sank die Glukose- und Oleatoxidation der Herzen im Vergleich von vor zu nach Ischämie. Betrachtet man die Oxidationsraten bezogen auf die Leistung fand man im Gegensatz zur Kontrollgruppe allerdings keine Steigerung der Oxidationsraten. Die Glukoseoxidation fiel ab und die Oleatoxidation blieb weitgehend unverändert.

Bei der Gruppe mit Gabe von Desipramin in der Reperfusion kam es ebenfalls zu einer geringeren Glukoseoxidation und Oleatoxidation. Auf die Leistung bezogen war ein Anstieg der Glukose- und Oleatoxidation zu beobachten. Dieser Anstieg war größer als der Anstieg der Kontrollgruppe (Abbildung 13).

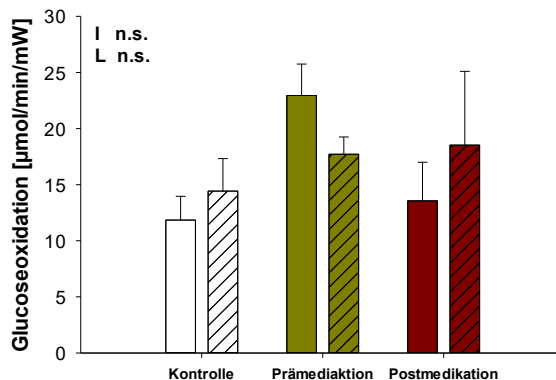
A



B



C



D

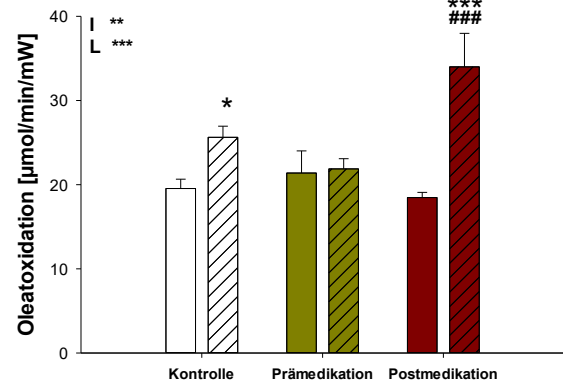


Abbildung 13: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die kardiale Substratoxidation

Glukoseoxidation (A) und Oleatoxidation (B); Glukoseoxidation (C) und Oleatoxidation (D) bezogen auf die Herzleistung; Vergleich zwischen Kontrolle (weiß), Prämedikation (grün) und Postmedikation (rot); Vor Ischämie (leer), Nach Ischämie (schraffiert); Mittelwert \pm Standardfehler $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$, $###$; Signifikanz innerhalb einer Gruppe = $*$; Signifikanz im Vergleich zur Kontrollgruppe = $\#$; I = Interaktion; L = Ischämie

Sowohl die Kontrollherzen als auch Herzen der Gruppe Postmedikation verloren, bedingt durch Ischämie an Effizienz. Im Gegensatz dazu verloren die Herzen der Gruppe Prämedikation bedingt durch Ischämie nicht an Effizienz. Herzen der Gruppe Prämedikation besaßen allerdings vor Ischämie eine geringere Effizienz im Vergleich zu allen unbehandelten Herzen. Nach der Ischämie fand sich die geringste Effizienz bei Herzen der Gruppe Postmedikation. Herzen der Kontrollgruppe und Herzen der Gruppe Prämedikation hatten eine vergleichbare Effizienz (Abbildung 14 und 15).

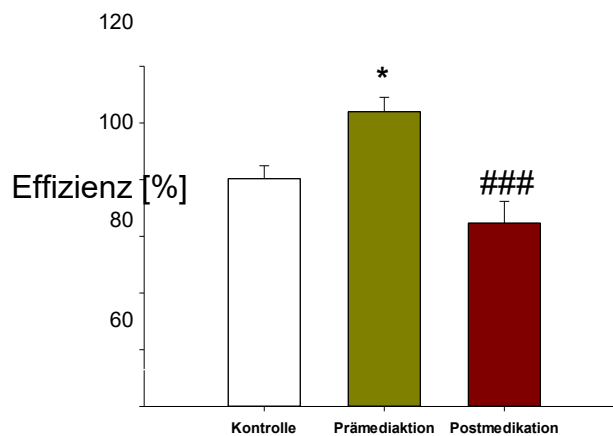


Abbildung 14: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)

*Vergleich zwischen Kontrolle (weiß), Prämedikation (grün) und Postmedikation (rot); Mittelwert ± Standardfehler; $p < 0,05 = *$, $p < 0,001 = ###$; Signifikanz zwischen Kontrolle und Prämedikation = *; Signifikanz zwischen Prämedikation und Postmedikation = #*

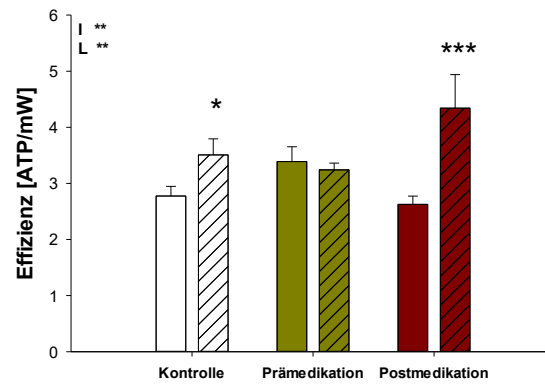


Abbildung 15: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)

Vergleich zwischen Kontrolle (weiß), Prämedikation (grün) und Postmedikation (rot); Vor Ischämie (leer), Nach Ischämie (schraffiert); Mittelwert \pm Standardfehler; $p < 0,05 = *$; $p < 0,01 = **$; $p < 0,001 = ***$; Signifikanz innerhalb einer Gruppe = *; I = Interaktion; L = Ischämie

7 Diskussion

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Zeitpunkt der Desipramingabe für eine Kardioprotektion ausschlaggebend ist. Eine Gabe von Desipramin nach Ischämie führte zu einer geringeren Herzleistung in der Reperfusion sowie einem gesteigerten Substratverbrauch pro Leistung. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass eine Gabe von Desipramin in der Reperfusion dem Herzmuskel schadet. Mit einer präischämischen Gabe Desipramins wurde eine schnellere Wiederherstellung der Herzleistung nach einer Ischämie erzielt. Weiter zeigte sich, dass Desipramin die Glukoseoxidation steigert. Dieser Einfluss auf die Substratoxidation hat sich insbesondere bei Ischämie- und Reperfusion als vorteilhaft erwiesen und verringert Ischämie- und Reperfusion assoziierte Schäden. Mit einer Gabe von Desipramin vor Ischämie kann so eine Kardioprotektion erzielt werden.

Die Ergebnisse aus den Versuchsreihen kamen zu dem Schluss, dass Desipramin eine negativ inotrope Wirkung besitzt. Die negativ inotrope Wirkung Desipramins wurde zwar auch in der Literatur beschrieben (Pflug 2013, Späth et al. 2013), wurde aber in der isolierten Herzperfusion von Cui et al. nicht gesehen (Cui et al. 2004). So war es bisher unklar, ob Desipramin auch am isolierten Herzen, unabhängig von den Einflüssen des vegetativen Nervensystems, negativ inotrop wirkt. Eine Erklärung für die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen von Cui et al. und dieser Arbeit liefert das Studiendesign. Cui et al. verglichen stets unbehandelte mit behandelten Herzen. Einzelne Rattenherzen weisen an der isolierten Herzperfusion allerdings auch bei konstanten Rahmenbedingungen zueinander eine gewisse Variabilität auf. Da der Leistungsverlust der Herzen durch die negativ inotrope Wirkung des Pharmakons aber den ungefähren Größenbereich dieser Variabilität umfasst, ist so ein Nachweis eines solchen Unterschiedes kaum möglich. In der vorliegenden Arbeit wurde die Leistung am selben Herz zwischen vor und nach Applikation von Desipramin verglichen. Eine Kontrollgruppe zeigte zudem, dass unbehandelte Herzen in der hier durchgeführten isolierten Herzperfusion über den Betrachtungszeitraum eine konstante Leistung erbringen. So war der beobachtete Leistungsverlust auf die Gabe von Desipramin zurückzuführen.

Herzen, die mit Desipramin vor der Ischämie behandelt wurden, erbrachten in dieser Arbeit in der Reperfusion im Vergleich zu den unbehandelten Herzen eine vergleichbare Herzleistung. Cui et al. fanden dagegen, dass mit Desipramin behandelte Herzen eine höhere Leistung in der Reperfusion erbringen als unbehandelte Herzen (Cui et al. 2004). Dies wurde in der vorliegenden Arbeit nicht gefunden. Im Unterschied zu der vorliegenden Arbeit betrachtete die isolierte Herzperfusion von Cui et al. jedoch auch einen größeren Zeitraum der Reperfusion. Er wertete die Herzleistung über 120 Minuten Reperfusion aus. Mit Desipramin behandelte Herzen wiesen nach 60 Minuten Reperfusion eine höhere Herzleistung auf als die unbehandelten Herzen (Cui et al. 2004). In dieser Arbeit wurde die Leistung über 50 Minuten Reperfusion beobachtet und ausgewertet. In den ersten 50 Minuten Reperfusion fanden Cui et al. ebenfalls keinen Unterschied in der Herzleistung zwischen den behandelten und den unbehandelten Herzen (Cui et al. 2004). So entsprechen die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse den Ergebnissen der Herzperfusion von Cui et al. Ein weiterer Unterschied zwischen dieser Arbeit und der Herzperfusion von Cui et al. besteht zwischen den Ischämiezeiten. Cui et al. setzten die Herzen 30 Minuten Ischämie aus (Cui et al. 2004). In der vorliegenden Arbeit wurden die Herzen 15 Minuten globaler Ischämie ausgesetzt. Eine anhaltende Ischämie führt mit fortschreitender Dauer zu größeren Ischämie- und Reperfusionsschäden am Herzmuskel (Palmer et al. 2004). Diese wirken sich wiederum auf die Herzleistung in der Reperfusion aus (Palmer et al. 2004). Es wäre daher denkbar, dass sich bei längeren Ischämiezeiten unbehandelte und behandelte Herzen mehr in ihrer Leistung unterscheiden.

Es zeigte sich außerdem, dass Desipramin eine schnellere Wiederherstellung der Herzleistung nach Ischämie ermöglicht. Die Herzen mit Desipramingabe vor Ischämie erbrachten in den ersten zehn Minuten der Reperfusion eine höhere Leistung als die unbehandelten Herzen. Taegtmeyer et al. stellten in einer Arbeit dar, dass eine Wiederherstellung der Herzleistung in der Reperfusion durch eine ineffiziente Substratverwertung des Herzmuskels eingeschränkt wird (Taegtmeyer et al. 1997). In der hier durchgeführten isolierten Herzperfusion konnte gezeigt werden, dass Desipramin die Glukoseoxidation der Herzen steigert. In der Literatur wurde diese

Wirkung von Desipramin bisher nicht beschrieben. Ohne eine Behandlung sind in der Reperfusion insbesondere Fettsäuren das bevorzugte Substrat für den Herzstoffwechsel (Wang und Lopaschuk 2007, Lopaschuk et al. 1990). So konnte auch in dieser Arbeit eine gesteigerte Oleatoxidation bei unbehandelten Herzen festgestellt werden. Die gesteigerte Fettsäureoxidation führt durch den Randle-Zyklus zu einer Inhibition von Glykolyse und Glukoseoxidation. Diese Inhibition wird insbesondere durch die Pyruvatdehydrogenase vermittelt (Randle et al. 1963). Dadurch kommt es zu einer Dysregulation von Glykolyse und Glukoseoxidation, die sukzessive zu einer intrazellulären Akkumulation von Protonen führt und somit in einer Azidose mündet (Jaswal et al. 2011, Robergs et al. 2004). Um ihre Zellhomöostase aufrechtzuerhalten, müssen die Kardiomyozyten ATP aufwenden, das dann wiederum nicht mehr für die mechanische Aufgabe der Zelle zur Verfügung steht. Dieser Mechanismus wird als Grund für eine Reduktion der metabolischen Effizienz nach einer Ischämie angesehen (Lopaschuk 1997, Lopaschuk et al. 1990, Lopaschuk et al. 2010, Lopaschuk et al. 1993, Taegtmeyer et al. 1997). Da Desipramin sowohl bei basaler Perfusion aber auch in der Reperfusion die Glukoseoxidation steigerte, ist es plausibel, dass Desipramin im Stande ist, einer Dysregulation von Glykolyse und Glukoseoxidation entgegenzuwirken. Folglich könnte so mit Desipramin eine Steigerung der Effizienz in der Reperfusion erzielt werden. In den Ischämie- und Reperfusionsversuchen konnte beobachtet werden, dass die mit Desipramin vorbehandelten Herzen vor und nach Ischämie denselben Substratverbrauch pro Leistung aufweisen. Unbehandelte Herzen zeigten in der Reperfusion hingegen eine deutliche Steigerung des Substratverbrauches pro Leistung und damit einhergehend eine geringere Effizienz. Diese Beobachtung lässt die Schlussfolgerung zu, dass Desipramin durch eine Steigerung der Glukoseoxidation einem Effizienzverlust des Substratstoffwechsels entgegenwirkt und eine schnellere Wiederherstellung der Herzleistung ermöglicht.

Durch eine vorliegende Ischämie und eine sich anschließende Reperfusion nimmt der Herzmuskel Schaden. Dieser Schaden ist als Ischämie- und Reperfusionsschaden bekannt. Bei der Entstehung des Ischämie- und Reperfusionsschaden spielt der kardiale Substratstoffwechsel eine wesentliche Rolle (Lopaschuk 1997, Lopaschuk et al. 1990, Lopaschuk et al. 2010, Lopaschuk et al. 1993). Ussher et al. konnte

demonstrieren, dass mit einer Steigerung der Glukoseoxidation auch eine Reduktion des Infarktareals einher geht (Ussher et al. 2012). Cui et al. fanden kleinere Infarktareale bei mit Desipramin behandelten Herzen als bei den unbehandelten Herzen. Sie führten diese Beobachtungen auf die Reduktion einer Bildung von Ceramiden zurück (Cui et al. 2004). In dieser Arbeit konnte allerdings gezeigt werden, dass Desipramin die Glukoseoxidation steigert. Somit könnte die Beobachtung von Cui et al. auch auf die Wirkung von Desipramin auf den Substratstoffwechsel zurückgeführt werden. Einen solchen Einfluss auf den Stoffwechsel auszunutzen, um Ischämie- und Reperfusionsschäden zu verringern, wurde bereits mit anderen Pharmaka erfolgreich getestet (Guarnieri und Muscari 1993, Pantos et al. 2005, Rahman et al. 1989, Taniguchi et al. 2001). Aber im Gegensatz zu bereits erforschten Substanzen, die durch eine Veränderung des Stoffwechsels Ischämie- und Reperfusionsschäden begegnen, verfügt Desipramin außerdem über weitere kardioprotektive Eigenschaften. So könnte Desipramin bisherigen erprobten Substanzen, die nur auf einem Einfluss auf den Substratstoffwechsels beruhen, überlegen sein.

Mit Desipramin vorbehandelte Herzen zeigten vor und nach Ischämie die gleiche Substratoxidation pro Leistung. Dieser Effizienzerhalt lässt sich zum einen durch die gesteigerte Glukoseoxidation erklären. Aber auch die Wirkung von Desipramin auf die Nexus könnte zum Erhalt der Effizienz beigetragen (eng.: Gap-Junctions) haben. Jozwiak et al. konnten zeigen, dass Desipramin eine Lateralisierung und Dissoziation von Nexus in der Ischämie effektiv verhindern kann (Jozwiak et al. 2012). Laut Gutstein et al. geht eine solche Dissoziation und Lateralisierung von Nexus mit einem Leistungsverlust der Herzen einher (Gutstein et al. 2001). Zurückzuführen ist der Verlust an Leistung auf eine zunehmende Unfähigkeit des Ventrikels sich synchron zu kontrahieren (Gutstein et al. 2001). Wird die Lateralisierung und Dissoziation der Nexus mit einer Gabe von Desipramin verhindert, ist die Konsequenz eine Erhöhung der Synchronität der Kontraktion des Herzmuskels. Aus dem durch Glukose- und Oleatoxidation generierten ATP kann folglich mehr Leistung erbracht werden und somit der Erhalt der Effizienz des Substratstoffwechsels in den Ischämie- und Reperfusionsversuchen erklärt werden.

Die mit Desipramin vorbehandelten Herzen zeigten in der Reperfusion keinen Anstieg der Oleatoxidation, bezogen auf deren Herzleistung. Im Gegensatz hierzu, wiesen die unbehandelten Herzen eine deutliche Steigerung der Oleatoxidation auf. Diese Beobachtung könnte durch den Randle-Zyklus erklärt werden. Randle et al. konnten zeigen, dass sich der Glukosestoffwechsel und Fettstoffwechsel wechselseitig hemmen (Randle 1998, Randle et al. 1963). Die in dieser Arbeit beobachtete Zunahme der Glukoseoxidation der mit Desipramin vorbehandelten Herzen erklärt so eine geringere Oleatoxidation als bei den unbehandelten Herzen. Bei einer Gabe von Desipramin in der Reperfusion führte Desipramin nicht zu einer Steigerung der Glukoseoxidation. Hier fehlte die Inhibition des Fettstoffwechsels durch den Glukosestoffwechsel. So konnte in der Reperfusion eine gesteigerte Oleatoxidation der Herzen beobachtet werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass nur ein präischämische Gabe Desipramins eine Kardioprotektion ermöglicht. In bisherigen Arbeiten wurde Desipramin an der isolierten Herzperfusion stets vor der Ischämie verabreicht (Jozwiak et al. 2012, Das et al. 2007, Dart und Riemersma 1988, Cui et al. 2004, Du und Riemersma 1992, Kurz et al. 1995). Novgorodov et al. kamen aber zu dem Schluss, dass es zu einer relevanten Akkumulation von Ceramiden erst in der Reperfusion kommt (Novgorodov und Gudz 2009). Da die Inhibition der Sphingomyelinase und somit die Verhinderung einer Bildung von Ceramiden einen zentralen Mechanismus von Desipramin darstellt, war es denkbar, dass auch eine postischämische Gabe eine Kardioprotektion ermöglicht. Entgegen dieser Annahme führte die postischämische Gabe von Desipramin jedoch zu einer Reduktion der Herzleistung, zu einer Einschränkung der Substratoxidation sowie zu einer Steigerung des Substratverbrauches pro Leistung. Diese Beobachtung zeigt, dass mit einer postischämischen Gabe Desipramins keine kardioprotektive Wirkung erreicht wird. Bei Betrachtung des Substratstoffwechsels zeigte sich, dass im Gegensatz zu einer präischämischen Gabe die postischämische Gabe nicht zu einer Steigerung der Glukoseoxidation führt. Bezogen auf die Herzleistung war allerdings insbesondere ein Anstieg der Oleatoxidation zu verzeichnen. Lopaschuk et al. führten auf, dass ein von Fettsäuren dominierter Substratstoffwechsel die Herzfunktion einschränken kann (Lopaschuk 1997, Lopaschuk et al. 1990, Lopaschuk et al. 2010, Lopaschuk et al. 1993). So könnte die

geringe Herzleistung der Herzen mit Gabe von Desipramin in der Reperfusion auf eine gesteigerte Oleatoxidation zurückzuführen sein.

Bei einer Gabe von Desipramin in der Reperfusion wurde eine geringere Herzleistung nach Ischämie beobachtet als bei den unbehandelten Herzen, die im weiteren Verlauf der Reperfusion weiter abfiel. Auch wiesen die Herzen eine gesteigerte Substratoxidation pro Leistung auf. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass eine postischämische Gabe von Desipramin den Herzmuskel schadet. Eine mögliche Erklärung für die Beobachtung, dass der Applikationszeitpunkt des Pharmakons kritisch ist, zeigt die Interaktion von Desipramin mit den Noradrenalinwiederaufnahmekanälen. Du et al. beschrieben, dass die Wege der Freisetzung von Noradrenalin in den synaptischen Spalt sich bei Ischämie und unter aeroben Bedingungen unterscheiden (Du und Dart 1993). Es konnte gezeigt werden, dass Desipramin während einer Ischämie das Entweichen von Noradrenalin in den synaptischen Spalt verhindern kann (Dart und Riemersma 1988, Kurz et al. 1995). Unter aeroben Bedingungen blockiert es allerdings die Wiederaufnahme des Noradrenalins aus dem synaptischen Spalt. Denkbar ist, dass bei einer Gabe von Desipramin in der Reperfusion es zwar zum Austreten von Noradrenalin in den synaptischen Spalt während der Ischämie kommt. Aber das ausgetretene Noradrenalin in der Reperfusion nur erschwert wieder aufgenommen werden kann, da Desipramin die Noradrenalinwiederaufnahmekanäle blockiert. Bei der präischämischen Gabe besteht dieses Problem nicht. Das Austreten des Noradrenalins wird in diesen Fall bereits während der Ischämie verhindert. Du, Dart Riemersma und Kurz et al. zeigten, dass mit einer Reduktion von austretendem Noradrenalin die Folgen der Noradrenalin-Flut für das Myokard verringert werden (Du und Dart 1993, Dart und Riemersma 1988, Kurz et al. 1995). Im Umkehrschluss führt mehr Noradrenalin im synaptischen Spalt zu einer Zunahme der Folgen der Noradrenalin-Flut. Die eingeschränkte Herzleistung und der Substratstoffwechsel in der Reperfusion sprechen somit für eine Zunahme der Folgen der Noradrenalin-Flut bei einer Gabe von Desipramin nach Ischämie.

Das dieser Arbeit zugrundeliegende Modell war die isolierte antegrade Herzperfusion. Das Modell der isolierten Herzperfusion ist eine etablierte und gut reproduzierbare Methode. Mit dieser ist es möglich organspezifische Rückschlüsse über die Herzleistung (Ytrehus 2000) und den Substratstoffwechsel (Taegtmeyer et al. 1980), ohne Einflüsse des vegetativen Nervensystems (Sutherland und Hearse 2000), zu ziehen. Die isolierte Herzperfusion eignet sich zur Untersuchung von Desipramin besonders gut, da Desipramin ein Pharmakon ohne relevante Metabolite ist. Die isolierte Herzperfusion erlaubt es zwar, Rückschlüsse auf die Wirkungen eines spezifischen Pharmakons am Herzen zu ziehen, hat aber den Nachteil, dass Pharmaka nicht metabolisiert werden. In vivo werden jedoch die meisten Pharmaka verstoffwechselt. Es entstehen Metabolite, die ebenfalls spezifische Wirkungen entfalten können. Daher kann es Unterschiede zwischen der in vivo Situation und der isolierten Herzperfusion geben. Desipramin wird aber in vivo rasch durch das Cytochrom-System der Leber biologisch inaktiviert (Nichols et al. 2013).

Besonders auffällig waren die Ergebnisse der Kontrollherzen über 80 Minuten Perfusion. Zwar konnten die Herzen ihre Leistung über die gesamte Versuchslaufzeit aufrechterhalten. Es wurde aber eine Zunahme der Glukoseoxidation und eine Abnahme der Oleatoxidation registriert. Taegtmeyer et al. beschrieben hingegen in ihrer Herzperfusion stabile Oxidationsraten bis zu 120 Minuten (Taegtmeyer et al. 1980). Dieser Zeitrahmen überschreitet den Betrachtungszeitraum der hier durchgeführten Versuchsreihen deutlich. Daher war zu erwarten, dass der dieser Arbeit zugrundeliegende Versuchsaufbau ebenfalls stabile Oxidationsraten zeigt. Das dies nicht der Fall war könnte am konstanten Verbrauch von Substraten aus dem Perfusat liegen. Je mehr Substrat die Herzen aus dem Perfusat verbrauchen, desto weniger Substrat bleibt im Perfusat zurück. Der Verbrauch könnte zu Veränderungen der Konzentration von Glukose und Oleat geführt haben. Erwiesen ist, dass die Substratutilisation des Herzmuskels von der Konzentration der einzelnen Substrate abhängt (Roskamm 2013). So könnte es zu beobachteten Veränderungen in der Konzentration von Glukose und Oleat gekommen sein. Dazu kommt, dass im Versuch regelmäßig Perfusatsproben entnommen wurden. Mit diesen Proben wurde nicht nur Volumen aus dem Versuchskreislauf entfernt, sondern auch Glukose und Oleat. Bei einer längeren Versuchsdauer verringert sich so zudem das Substratangebot. Bei

gleichem Verbrauch kommt es so bei längerer Versuchsdauer schneller zu Konzentrationänderungen. Taegtmeyer et al. entnahm alle 15 Minuten 1 mL Perfusat (Taegtmeyer et al. 1980). In der vorliegenden Arbeit wurden alle 5 Minuten 2 mL Perfusat entnommen und somit sechsmal so viel Perfusat aus dem Kreislauf entnommen wie in der Perfusion von Taegtmeyer et al. Rechnerisch verbrauchten die Herzen im Verlauf der hier durchgeführten Perfusion 2,0%-2,5% der Glukose und 2,4%-2,9% des Oleats aus dem Perfusat. Dieser Verbrauch war gering und erklärt somit kaum die Veränderungen der Substratoxidation. Die Ursache für die beobachteten Veränderungen der Substratoxidation bleibt unklar.

Der Betrachtungszeitraum der Versuche wurde auf die Zeit begrenzt, in der die Oxidationsraten stabil waren. So wurde der Betrachtungszeitraum der ersten Versuchsreihe auf 50 Minuten festgelegt. Die zweite Versuchsreihe wurde zwar über 80 Minuten beobachtet, aber während der Ischämie fand auch kein Fluss des Perfusates durch die Koronarien der Herzen statt. Auch wurden während der Ischämiezeit und der Überleitungszeit keine Perfusatproben entnommen. In Anbetracht dessen und dem reduzierten Stoffwechsel in der Reperfusion ist so der Betrachtungszeitraum der Ischämie- und Reperfusionsversuche sinnvoll.

Desipramin ist als Pharmakon unter dem Handelsnamen „Pertrofran“ 1965 in Deutschland auf den Markt erschienen (Psychologie 2019). Heute ist es in den meisten Ländern, einschließlich Deutschland, nicht mehr verfügbar (Dellas 2018). Da Desipramin aber bereits breite Anwendung in der Medizin gefunden hat, bestünde die Möglichkeit die Ergebnisse an der isolierten Perfusion mit Daten von Patienten zu vergleichen.

8 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass der Zeitpunkt der Desipramingabe für eine Kardioprotektion ausschlaggebend ist. Eine Gabe von Desipramin nach Ischämie schadete den Herzmuskel, was sich in einer herabgesetzten Herzleistung und in einem gesteigerten Substratverbrauch pro Leistung in der Reperfusion widerspiegelte. Mit einer präischämischen Gabe Desipramins wurde eine schnellere Wiederherstellung der Herzleistung nach einer Ischämie erzielt. Weiter zeigte sich, dass Desipramin die Glukoseoxidation steigert. Dieser Einfluss auf die Substratoxidation hat sich insbesondere bei der Protektion des Myokards vor Ischämie- und Reperfusionsschäden als vorteilhaft erwiesen. Durch eine gesteigerte Glukoseoxidation wird einer Dysregulation der Glukoseverwertung entgegengewirkt. Dies ermöglicht dem Herzmuskel eine höhere metabolische Effizienz nach einer Ischämie. In dieser Arbeit zeigten mit Desipramin behandelte Herzen denselben Substratverbrauch pro Leistung nach einer Ischämie wie vor Ischämie und verloren somit nicht an Effizienz. Folglich besteht in der präventiven Verwendung von Desipramin eine Möglichkeit den Herzmuskel vor Ischämie- und Reperfusionsschäden zu schützen.

9 Literaturverzeichnis

- Abozguia K, Shivu GN, Ahmed I, Phan TT, Frenneaux MP. 2009. The heart metabolism: pathophysiological aspects in ischaemia and heart failure. *Curr Pharm Des*, 15 (8):827-835.
- Argaud L, Prigent AF, Chalabreysse L, Loufouat J, Lagarde M, Ovize M. 2004. Ceramide in the antiapoptotic effect of ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286 (1):H246-251.
- Behrends JC. 2010a. *Chemisches Synapsen in Physiologie: 93 Tabellen*. Thieme.
- Behrends JC. 2010b. *Hormonelle Regulation in Physiologie: 93 Tabellen*. Thieme.
- Bhakri KP, Mulholland J, Punjabi PP. 2014. Understanding innovations in the evolving practice of blood and crystalloid cardioplegia. *Perfusion*, 29 (6):505-510.
- Bing RJ, Siegel A, Ungar I, Gilbert M. 1954. Metabolism of the human heart. II. Studies on fat, ketone and amino acid metabolism. *Am J Med*, 16 (4):504-515.
- Braunwald E, Kloner RA. 1985. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest*, 76 (5):1713-1719.
- Bretschneider HJ, Hubner G, Knoll D, Lohr B, Nordbeck H, Spieckermann PG. 1975. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 16 (3):241-260.
- Cui J, Engelman RM, Maulik N, Das DK. 2004. Role of ceramide in ischemic preconditioning. *J Am Coll Surg*, 198 (5):770-777.
- Dart AM, Riemersma RA. 1988. Origins of endogenous noradrenaline overflow during reperfusion of the ischaemic rat heart. *Clin Sci (Lond)*, 74 (3):269-274.
- Das M, Cui J, Das DK. 2007. Generation of survival signal by differential interaction of p38MAPKalpha and p38MAPKbeta with caveolin-1 and caveolin-3 in the adapted heart. *J Mol Cell Cardiol*, 42 (1):206-213.
- Dellas C. 2018. *Dellas, Last Minute Pharmakologie 3.A*. Elsevier Health Sciences.
- DGTHG 23.10.2018. Herz-Lungen-Maschine seit 65 Jahren erfolgreich im Einsatz <https://www.dgthg.de/de/node/358>.

- Dhein S, Hagen A, Jozwiak J, Dietze A, Garbade J, Barten M, Kostelka M, Mohr FW. 2010. Improving cardiac gap junction communication as a new antiarrhythmic mechanism: the action of antiarrhythmic peptides. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 381 (3):221-234.
- Du XJ, Riemersma RA. 1992. Effects of presynaptic alpha-adrenoceptors and neuronal reuptake on noradrenaline overflow and cardiac response. *Eur J Pharmacol*, 211 (2):221-226.
- Du XJ, Dart AM. 1993. Mechanisms of noradrenaline release in the anoxic heart of the rat. *Cardiovasc Res*, 27 (11):2011-2015.
- Eckhardt K, Roth P, Gunter T, Schmidt S, Feuerstein TJ. 2003. Differential effects of K(ATP) channel blockers on [(3)H]-noradrenaline overflow after short- and long-term exposure to (+)-oxaprotiline or desipramine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 367 (2):168-175.
- Eltzschig HK, Eckle T. 2011. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med*, 17 (11):1391-1401.
- Fukushima A, Milner K, Gupta A, Lopaschuk GD. 2015. Myocardial Energy Substrate Metabolism in Heart Failure : from Pathways to Therapeutic Targets. *Curr Pharm Des*, 21 (25):3654-3664.
- Gates RN, Laks H, Drinkwater DC, Pearl JM, Zaragoza AM, Lewis W, Sorensen TJ, Kaczer EM, Chang PA. 1993. Gross and microvascular distribution of retrograde cardioplegia in explanted human hearts. *Ann Thorac Surg*, 56 (3):410-416; discussion 417.
- Gay WA, Jr., Ebert PA. 1973. Functional, metabolic, and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surgery*, 74 (2):284-290.
- Groesdonk HV, Larsen R. 2016. *Anästhesie und Intensivmedizin in der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie*. Springer Berlin Heidelberg.
- Guarnieri C, Muscari C. 1993. Effect of trimetazidine on mitochondrial function and oxidative damage during reperfusion of ischemic hypertrophied rat myocardium. *Pharmacology*, 46 (6):324-331.

Güter SUM, Linnemann M, Bredemann S, Kühl M. 2013. Biochemie für Mediziner: Ein Lern- und Arbeitsbuch mit klinischem Bezug. Vieweg+Teubner Verlag.

Gutstein DE, Morley GE, Vaidya D, Liu F, Chen FL, Stuhlmann H, Fishman GI. 2001. Heterogeneous expression of Gap junction channels in the heart leads to conduction defects and ventricular dysfunction. *Circulation*, 104 (10):1194-1199.

Habertheuer A, Kocher A, Laufer G, Andreas M, Szeto WY, Petzelbauer P, Ehrlich M, Wiedemann D. 2014. Cardioprotection: a review of current practice in global ischemia and future translational perspective. *Biomed Res Int*, 2014:325725.

Halestrap AP. 2006. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans*, 34 (Pt 2):232-237.

Halestrap AP, McStay GP, Clarke SJ. 2002. The permeability transition pore complex: another view. *Biochimie*, 84 (2-3):153-166.

Hausenloy DJ, Yellon DM. 2013. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest*, 123 (1):92-100.

Heinrich PC, Müller M, Graeve L. 2014. Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. Springer Berlin Heidelberg.

Horn F. 2009. Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium. Thieme.

How OJ, Aasum E, Kunnathu S, Severson DL, Myhre ES, Larsen TS. 2005. Influence of substrate supply on cardiac efficiency, as measured by pressure-volume analysis in ex vivo mouse hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 288 (6):H2979-2985.

Hue L, Taegtmeyer H. 2009. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297 (3):E578-591.

Iliodromitis EK, Cohen MV, Dagres N, Andreadou I, Kremastinos DT, Downey JM. 2015. What is Wrong With Cardiac Conditioning? We May be Shooting at Moving Targets. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 20 (4):357-369.

Jaswal JS, Keung W, Wang W, Ussher JR, Lopaschuk GD. 2011. Targeting fatty acid and carbohydrate oxidation--a novel therapeutic intervention in the ischemic and failing heart. *Biochim Biophys Acta*, 1813 (7):1333-1350.

- Jozwiak J, Dietze A, Grover R, Savtschenko A, Etz C, Mohr FW, Dhein S. 2012. Desipramine prevents cardiac gap junction uncoupling. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 385 (11):1063-1075.
- Krenz M, Baines C, Kalogeris T, Korthuis R. 2013. *Cell Survival Programs and Ischemia/Reperfusion: Hormesis, Preconditioning, and Cardioprotection*. Biota Publishing.
- Kurz T, Richardt G, Hagl S, Seyfarth M, Schomig A. 1995. Two different mechanisms of noradrenaline release during normoxia and simulated ischemia in human cardiac tissue. *J Mol Cell Cardiol*, 27 (5):1161-1172.
- Larsen R. 2009. *Anästhesie und Intensivmedizin in Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie*. Springer.
- Liu B, Clanachan AS, Schulz R, Lopaschuk GD. 1996a. Cardiac efficiency is improved after ischemia by altering both the source and fate of protons. *Circulation Research*, 79 (5):940-948.
- Liu B, el Alaoui-Talibi Z, Clanachan AS, Schulz R, Lopaschuk GD. 1996b. Uncoupling of contractile function from mitochondrial TCA cycle activity and MVO₂ during reperfusion of ischemic hearts. *Am J Physiol*, 270 (1 Pt 2):H72-80.
- Lopaschuk GD. 1997. Alterations in fatty acid oxidation during reperfusion of the heart after myocardial ischemia. *Am J Cardiol*, 80 (3A):11A-16A.
- Lopaschuk GD, Wambolt RB, Barr RL. 1993. An imbalance between glycolysis and glucose oxidation is a possible explanation for the detrimental effects of high levels of fatty acids during aerobic reperfusion of ischemic hearts. *J Pharmacol Exp Ther*, 264 (1):135-144.
- Lopaschuk GD, Spafford MA, Davies NJ, Wall SR. 1990. Glucose and palmitate oxidation in isolated working rat hearts reperfused after a period of transient global ischemia. *Circ Res*, 66 (2):546-553.
- Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. 2010. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev*, 90 (1):207-258.
- Maan JS, Saadabadi A. 2018. Desipramine. *StatPearls*. Treasure Island (FL).

- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. 1986. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 74 (5):1124-1136.
- Myrmet T, Forsdahl K, Larsen TS. 1992. Triacylglycerol metabolism in hypoxic, glucose-deprived rat cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 24 (8):855-868.
- Nichols AI, Abell M, Chen Y, Behrle JA, Frick G, Paul J. 2013. Effects of desvenlafaxine on the pharmacokinetics of desipramine in healthy adults. *Int Clin Psychopharmacol*, 28 (2):99-105.
- Nicolini F, Agostinelli A, Vezzani A, Manca T, Benassi F, Molardi A, Gherli T. 2014. The evolution of cardiovascular surgery in elderly patient: a review of current options and outcomes. *Biomed Res Int*, 2014:736298.
- Novgorodov SA, Gudz TI. 2009. Ceramide and mitochondria in ischemia/reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol*, 53 (3):198-208.
- Palmer BS, Hadziahmetovic M, Veci T, Angelos MG. 2004. Global ischemic duration and reperfusion function in the isolated perfused rat heart. *Resuscitation*, 62 (1):97-106.
- Pantos C, Bescond-Jacquet A, Tzeis S, Paizis I, Mourouzis I, Moraitis P, Malliopoulou V, Politi ED, Karageorgiou H, Varonos D, Cokkinos DV. 2005. Trimetazidine protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury in an experimental timing-dependent manner. *Basic Res Cardiol*, 100 (2):154-160.
- Penny WJ. 1984. The deleterious effects of myocardial catecholamines on cellular electrophysiology and arrhythmias during ischaemia and reperfusion. *Eur Heart J*, 5 (12):960-973.
- Pflug B. 2013. Differenzierte Therapie mit trizyklischen Antidepressiva. Springer Berlin Heidelberg.
- Pittas K, Vrachatis DA, Angelidis C, Tsoucala S, Giannopoulos G, Deftereos S. 2018. The role of calcium handling mechanisms in reperfusion injury. *Curr Pharm Des*.
- Psychologie eWfPu 2019. 07.03.2019. Psychopharmaka (Zeittafel) <http://www.etsy.de/psychopharmaka/zeittafel.htm>.

- Rahman F, Toshima Y, Kohno H, Kinoshita K, Tokunaga K. 1989. The protective effects of trimetazidine on normothermic ischemic myocardium in rats. *Jpn J Surg*, 19 (3):346-350.
- Randle PJ. 1998. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes Metab Rev*, 14 (4):263-283.
- Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 1 (7285):785-789.
- Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. 2004. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 287 (3):R502-516.
- Roe BB, Hutchinson JC, Fishman NH, Ulliyot DJ, Smith DL. 1977. Myocardial protection with cold, ischemic, potassium-induced cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 73 (3):366-374.
- Rona G. 1985. Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol*, 17 (4):291-306.
- Rosenberg JH, Werner JH, Moulton MJ, Agrawal DK. 2018. Current Modalities and Mechanisms Underlying Cardioprotection by Ischemic Conditioning. *J Cardiovasc Transl Res*, 11 (4):292-307.
- Roskamm H. 2013. *Koronarerkrankungen*. Springer Berlin Heidelberg.
- Roskamm H, Reindell H. 2013. *Herzkrankheiten: Pathophysiologie Diagnostik Therapie*. Springer Berlin Heidelberg.
- Schomig A, Dart AM, Dietz R, Mayer E, Kubler W. 1984. Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: Locally mediated release. *Circ Res*, 55 (5):689-701.
- Späth G, Czech K, Bartels O. 2013. *Vergiftungen und akute Arzneimittelüberdosierungen: Wirkungsmechanismus, Sofortmaßnahmen und Intensivtherapie*. De Gruyter.
- Sutherland FJ, Hearse DJ. 2000. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart. *Pharmacol Res*, 41 (6):613-627.

Taegtmeyer H, Hems R, Krebs HA. 1980. Utilization of energy-providing substrates in the isolated working rat heart. *Biochem J*, 186 (3):701-711.

Taegtmeyer H, Goodwin GW, Doenst T, Frazier OH. 1997. Substrate metabolism as a determinant for postischemic functional recovery of the heart. *Am J Cardiol*, 80 (3A):3A-10A.

Taniguchi M, Wilson C, Hunter CA, Pehowich DJ, Clanachan AS, Lopaschuk GD. 2001. Dichloroacetate improves cardiac efficiency after ischemia independent of changes in mitochondrial proton leak. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280 (4):H1762-1769.

Ussher JR, Wang W, Gandhi M, Keung W, Samokhvalov V, Oka T, Wagg CS, Jaswal JS, Harris RA, Clanachan AS, Dyck JR, Lopaschuk GD. 2012. Stimulation of glucose oxidation protects against acute myocardial infarction and reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 94 (2):359-369.

Vahasilta T, Saraste A, Kyto V, Malmberg M, Kiss J, Kentala E, Kallajoki M, Savunen T. 2005. Cardiomyocyte apoptosis after antegrade and retrograde cardioplegia. *Ann Thorac Surg*, 80 (6):2229-2234.

Vallbracht C, Kaltenbach M. 2006. Herz Kreislauf kompakt. Steinkopff.

Vinten-Johansen J. 2004. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 61 (3):481-497.

Wang W, Lopaschuk GD. 2007. Metabolic therapy for the treatment of ischemic heart disease: reality and expectations. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 5 (6):1123-1134.

Wood FO, Leonowicz NA, Vanhecke TE, Dixon SR, Grines CL. 2012. Mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction who do not undergo reperfusion. *Am J Cardiol*, 110 (4):509-514.

Ytrehus K. 2000. The ischemic heart--experimental models. *Pharmacol Res*, 42 (3):193-203.

Yu ZB, Sheng JJ. 2011. [Remodeling of cardiac gap junctions and arrhythmias]. *Sheng Li Xue Bao*, 63 (6):586-592.

Ziemer G, Haverich A. 2010. Herzchirurgie: Die Eingriffe am Herzen und an den herznahen Gefäßen. Springer Berlin Heidelberg.

Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. 1987. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. Proc Natl Acad Sci U S A, 84 (5):1404-1407.

10 Anhang

10.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus:	19
Abbildung 2: Schematische Übersicht der ersten Versuchsreihe	22
Abbildung 3: Schematische Übersicht der zweiten Versuchsreihe mit Ischämie und Reperfusion	23
Abbildung 4: Entwicklung der kardialen Substratoxidation über die Versuchslaufzeit	28
Abbildung 5: Entwicklung der Herzleistung der Kontrolltiere über die Versuchslaufzeit	29
Abbildung 6: Einfluss von Desipramin auf die Herzleistung:	29
Abbildung 7: Einfluss von Desipramin auf die kardiale Substratoxidation.....	30
Abbildung 8: Einfluss von Desipramin auf die Herzleistung	32
Abbildung 9: Einfluss von Desipramin auf die kardiale Substratoxidation.....	33
Abbildung 10: Einfluss Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)	34
Abbildung 11: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Herzleistung	34
Abbildung 12: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Herzleistung	35
Abbildung 13: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die kardiale Substratoxidation.....	36
Abbildung 14: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)	37
Abbildung 15: Einfluss von Ischämie und Reperfusion sowie Desipramin auf die Effizienz (Substratverbrauch pro Leistung)	38

10.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Chemikalien	18
Tabelle 2: Geräte.....	19
Tabelle 3: Stammlösung: Krebs-Henseleit-Medium (20-fach)	21
Tabelle 4: Stammlösung: NaHCO_3	21
Tabelle 5: Stammlösung: CaCl_2.....	21
Tabelle 6: Krebs-Henseleit-Medium	21
Tabelle 7: Krebs-Henseleit-Medium mit Oleat.....	21
Tabelle 8: Tierdaten der ersten Versuchsreihe	27
Tabelle 9: Tierdaten der zweiten Versuchsreihe	31

10.3 Danksagung

Ohne die vielfältige Unterstützung zahlreicher Personen hätte diese Arbeit in der vorliegenden Form nicht realisiert werden können. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die bei der Entstehung dieser Dissertation mitgewirkt haben.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Torsten Doenst, der mir ermöglichte an diesem interessanten Projekt zu Arbeiten.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Michael Schwarzer. Nicht nur während der experimentellen Arbeit, sondern auch bei der Auswertung der Daten und der Anfertigung des Manuskriptes war seine Unterstützung nicht wegzudenken. Vielen Dank für die Geduld und Mühen!

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Mitgliedern des Forschungslabor der Herz-Thoraxchirurgie. Herr Ilia Velichkov gebührt besonderer Dank für die Einweisung und das Unterrichten der Methodik, die dieser Arbeit zugrunde liegt. Bei Frau Stefanie Kynast möchte ich mich für zahlreiche Unterstützungen im Labor und im Umgang mit den Tieren bedanken. Vielen Dank!

Auch möchte ich mich bei Elke Stigler und Jette Mührel für deren Motivation und Rat bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern Gabriele Müller-Magerl und Wilfried Magerl bedanken, die mich in meinem Studium und auch bei der Anfertigung dieser Arbeit immer unterstützt haben.

10.4 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Dr. rer. nat. Michael Schwarzer,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers